ISSN 0376-477X

台灣農業研究

第五十四卷　　第二期

目　次

論說

DNA甲基化分析技術之發展與應用
…………許育嘉、古新梅、王強生 … 71

研究報告

甘藷台農72號烤藷品質之研究
…………利幸貞、陳一心 … 83

細胞分裂素與透氣性容器封口對丹參組培苗增殖與玻璃質化之影響
…………陳威臣、蕭翌柱、蔡新聲、夏奇鈮 … 93

水稻直鏈性澱粉突變體快速篩選法
…………鄭統隆、林素月、曾東海、王強生 …103

脆梅壓裂機之研究
…………黃禮棟、周廷弘、楊智凱 …113

水稻之氣象資源利用效率探討-I.輻射利用效率
…………姚銘輝、陳守泓、梁連勝 …123

中華民國九十四年六月

行政院農業委員會農業試驗所出版

中華民國　臺灣　臺中縣　霧峰鄉

DNA 甲基化分析技術之發展與應用 [1]

許育嘉[2] 古新梅[3] 王強生[4,5]

摘　　要

許育嘉、古新梅、王強生。2005。DNA 甲基化分析技術之發展與應用。台灣農業研究 54:71-82。

基因組中 DNA 甲基化程度與基因表現密切相關，因此，逐漸受到重視。目前有兩類技術運用於 DNA 甲基化程度的研究，包括非重亞硫酸鹽（non-bisulfite）和重亞硫酸鹽（bisulfite）的方法。在不使用重亞硫酸鹽處理之 DNA 甲基化分析，是結合 AFLP 的技術，配合對甲基化敏感的限制酵素之使用，稱甲基敏感擴增多型性方法（MSAP），此方法乃是利用酵素對於不同甲基化程度辨識的差異，判斷特定 DNA 序列之甲基化形式，為完全甲基化或是未甲基化，此方法主要受限於只能研究在同辨識位中所出現的胞嘧啶，不能測定到某些胞嘧啶受甲基化的情形，會導致低估 DNA 甲基化的程度。在使用重亞硫酸鹽分析 DNA 甲基化方面，以甲基特異 PCR 方法（MSP）為最廣泛應用於 CpG 島甲基化的研究，此方法成功的關鍵在於引子的設計，由於此法具有高靈敏度，所以能允許偵測微量樣品 DNA 甲基化的情形，甚至包括由埋蠟或是顯微解剖來的組織均可分析。甲基化敏感的單核苷酸引子延長反應法（Ms-SNuPE）是藉由單一核苷酸引子，在處理過重亞硫酸鹽的 DNA 上進行擴增，可以評估特定 CpG 島甲基化的不同，此法能進行定量分析，不需利用限制酵素，能藉由利用多個引子的策略，在引子擴增反應下，分析多個 CpG 位置，由於需仰賴放射性強度的測定，靈敏度較差為此方法的主要缺點。組合重亞硫酸鹽限制分析法（COBRA），為一個定量技術，它能測定小量基因組 DNA 中，特定基因座 DNA 甲基化的程度，由於此法能針對 DNA 甲基化的情形作準確的定量分析，並可大量分析樣品與應用在埋蠟切片組織的分析，所以在 DNA 甲基化分析的領域已受到重視。

關鍵詞：甲基化、CpG 島、重亞硫酸鹽、非重亞硫酸鹽。

前　　言

DNA 甲基化作用(DNA methylation)是由甲基轉移酶(methyltransferases)媒介的 DNA 化學修飾作用，甲基化形式分兩類，一類為在胞嘧啶(cytosine)環的第五個 C 位置上加入甲基(methyl group, CH_3)

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2227 號。接受日期：94 年 6 月 30 日。
2. 中興大學農藝系博士班研究生。臺灣　臺中市。
3. 中興大學農藝系助理教授。臺灣　臺中市。
4. 本所農藝組研究員兼組長。臺灣　臺中縣 霧峰鄉。
5. 通訊作者，電子郵件：cswang@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

稱為 5’-甲基胞嘧啶(methyl-cytosine, ^{5m}C or ^{m}C)，另一類則是由 S-腺核甘甲硫胺酸(s-adenosylmethionine(SAM))轉移一個甲基到腺嘌呤 (adenine, A) N^6的位置。甲基化對於 DNA 而言是一個重要的修飾作用，在原核生物中，DNA 甲基化能對 DNA 進行修補和自我 DNA 的保護；在植物中則可對基因組進行管理及調節基因表現，進而調節植物的生長發育(Finnegan & Kovac 2000)。

對於 DNA 甲基化的檢測，目前有兩類主要研究 DNA 甲基化程度的方法，包括非重亞硫酸鹽(non-bisulfit) 和重亞硫酸鹽 (bisulfit) 的方法。早期 DNA 甲基化的檢測是仰賴對甲基化敏感的限制酶(restriction enzymes)，與南方墨點 (Southern blot)分析組合或聚合酵素鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 測定 (圖 1)，雖然這些技術簡單，但受限制於酵素本身之可利用的限制切位資訊，不正確的結果可能是來自不完全切割，而且需要大量的 DNA，造成偵測上的限制 (Eads *et al*. 2000)。這個問題可藉由 DNA 重亞硫酸鹽方法的修改而解決，能對甲基化程度進行比較，並測定對偶基因甲基化的情形。經重亞硫酸鹽修改的 DNA，可藉由所設計的 PCR 引子進行擴增，即所謂甲基特異 PCR (methylation-specific PCR)，可以顯示出甲基化胞嘧啶型式的差異；或是可與甲基化敏感的限制酶結合的方法，即 combined bisulfite restriction analyses，簡稱 COBRA 方法；或直接進行基因組定序，均可進行 DNA 甲基化的檢測 (Fraga & Esteller 2002)。

本文乃針對利用非重亞硫酸鹽和重亞硫酸鹽的 DNA 甲基化檢測技術進行探討，希望所提供的相關資訊，可以幫助研究者去選擇最佳的分析方法，進行 DNA 甲基化的研究。

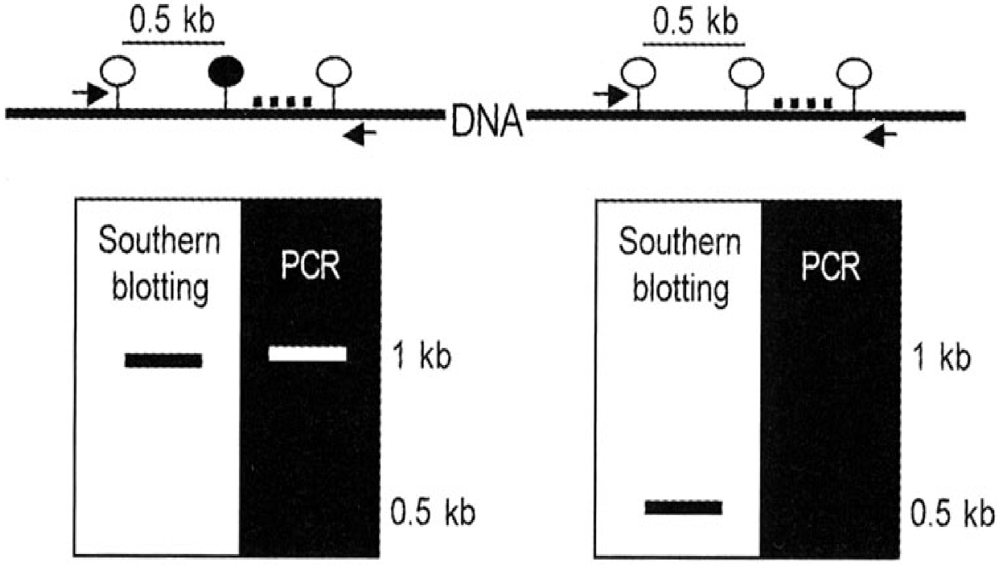

圖 1. 以甲基化和未甲基化的單一 CpG 目標位置為例，藉由南方墨點法和 PCR 方法，研究特定位置 DNA 甲基化的預測結果。黑色圓圈為甲基化胞嘧啶。箭頭的標誌為 PCR 引子。不連續的線為南方墨點法分析使用的探針。

Fig. 1. Anticipated results of studying site-specific DNA methylation by Southern blot analysis and PCR in the case of methylation and unmethylation for a single CpG target. Black circles indicate cytosine mehtylation. Arrows symbolize PCR primers. The discontinuous lines illustrate probes for Southern blot analysis.

(Fraga & Esteller 2002)

非重亞硫酸鹽分析 DNA 甲基化

在不使用重亞硫酸鹽處理之 DNA 甲基化分析方面，Portis *et al.* (2004)結合擴增片段長度多型性(Amplified fragment length polymorphism, AFLP) 技術配合甲基化敏感的限制酵素之使用，創立甲基敏感擴增多型性方法 (methylation-sensitive amplification polymorphism, MSAP)。他們是利用同切位酵素 *Hpa* II 和 *Msp* I 對 DNA 片段進行切割，*Hpa* II 和 *Msp* I 都會切割 CCGG，但 *Hpa* II 不會切 $C^{5m}CGG$，只會切半甲基化 (hemi-methylation) (只在一股有甲基化)的 $^{5m}CCGG$，而 *Msp* I 會辨識 $C^{5m}CGG$，無論半甲基化與完全甲基化(兩股均有甲基化)的 DNA 片段均會被切割，但不會切割 $^{5m}CCGG$ (圖 2)，將切割後的 DNA 片段加上接頭(adapter)再利用所設計的引子對進行 PCR 擴增。利用像 *Eco* RI 與 *Hpa* II 或 *Eco* RI 與 *Msp* I 之組合，根據它們的辨識位的不同，可以判斷一特定 DNA 序列之甲基化形式為完全甲基化或是未甲基化(圖 2)；另外，根據甲基化的類型，可以更進一步的去區分屬於內部胞嘧啶完全甲基化，或是外部胞嘧啶半甲基化的形態(圖 3)。此一方法主要受到二個限制：一是只能去研究在同辨識位(isoschizomer)中所出現的胞嘧啶，其次，此技術不能測定一些胞嘧啶受甲基化的情形，導致低估 DNA 甲基化的程度，例如：兩個胞嘧啶或是外部胞嘧啶為完全甲基化，此兩者均無法被辨認切割。儘管有這樣的限制，學者還是認為此技術能對大範圍，並以極高效率的方式測定胞嘧啶甲基化情形。

重亞硫酸鹽分析 DNA 甲基化

甲基特異 PCR (methylation-specific PCR, MSP)

利用重亞硫酸鹽處理分析 DNA 甲基化之方法如圖 4 所示，DNA 經重亞硫酸鹽處理後，胞嘧啶(C)會被轉變為尿嘧啶(U)再變為胸腺嘧啶(T)；但若為甲基化胞嘧啶(^{m}C)，經重亞硫酸鹽處理後其鹼基形態並不會受到改變，仍為胞嘧啶，所以經重亞硫酸鹽處理後，可以利用 PCR 配合酵素剪切的方式來分析 DNA 甲基化的情形。在許多使用重亞硫酸鹽的方法中，以甲基特異 PCR 方法(MSP)為最廣泛被應用於研究 CpG 島甲基化的技術(Herman *et al.* 1996)。通常在正常組織中，CpG 島的胞嘧啶是未甲基化的，當它們在基因啟動子之序列若被甲基化，則會與不正常細胞形成的過程有關，而利用 MSP 方法來研究這些區域之甲基化特性，是最有效的選擇(Fraga & Esteller 2002)。

利用 MSP 分析甲基化和未甲基化對偶基因間的差異，在 DNA 變性後進行重亞硫酸鈉(sodium bisulfite)處理，將特定基因擴增產物進行定序，並設計尋找 DNA 甲基化的引子對，此方法對於含豐富 CpG 序列的 CpG 島之研究特別有用，而以 MSP 方法分析，成功的關鍵在於引子的設計，所有序列甲基化形式可以在電泳分離後，由膠體條帶之影像來分析判斷(圖 5)。進行 MSP 分析時，引子對之設計必須考慮：(1)兩個引子黏合溫度必須要相似，而且也要在 55 ℃和 65 ℃之間；(2)PCR 產物應該在 80-175 bp 之間；(3)每個引子應該包含至少兩個 CpG 對；(4)正義股引子應該包含一個 CpG 對在它的 3’-end；此外更要(5)避免不正確的對照（未甲基化的擴增及未改變的 DNA），引子應該含有非 CpG 的胞嘧啶。MSP 法因為具有高靈敏度，所以能允許偵測微量樣品 DNA 甲基化的情形，甚至包括由埋蠟或是顯微解剖來的組織都可進行分析(Fraga & Esteller 2002)。

甲基化敏感的單核苷酸引子延長反應 (methylation-sensitive single nucleotide primer extension, Ms-SNuPE)

Gonzalgo & Jones (1997)發展了一套能快速定量 DNA 甲基化的方法，稱為 Ms-SNuPE 法，此方法是藉由單核苷酸引子，在處理過重亞硫酸鹽的 DNA 上進行擴增，可以評估特定 CpG 位甲基化的差異。SNuPE 法是將基因組 DNA 先利用重亞硫酸鹽處理，利用特定的引子進行 PCR 擴增，隨後在電泳膠片

上將 PCR 產物分離，再利用 Ms-SNuPE 引子、Taq 聚合酶和 ^{32}P-dCTP 或 ^{32}P-dTTP，藉由聚丙烯醯胺（polyacrylamide）膠進行電泳和磷屏影像分析，而相對的另一股，可由設計的 Ms-SNuPE 引子所接上的是 ^{32}P- dATP 或 ^{32}P-dGTP 來評估甲基化的情形(圖 6)。若樣品 DNA 中的胞嘧啶有被甲基化，則在 C lane 所出現的條帶強度，會與甲基化胞嘧啶呈現比例關係，而 T lane 所出現的條帶強度，則與未甲基化胞嘧啶呈現比率關係(圖 5)。

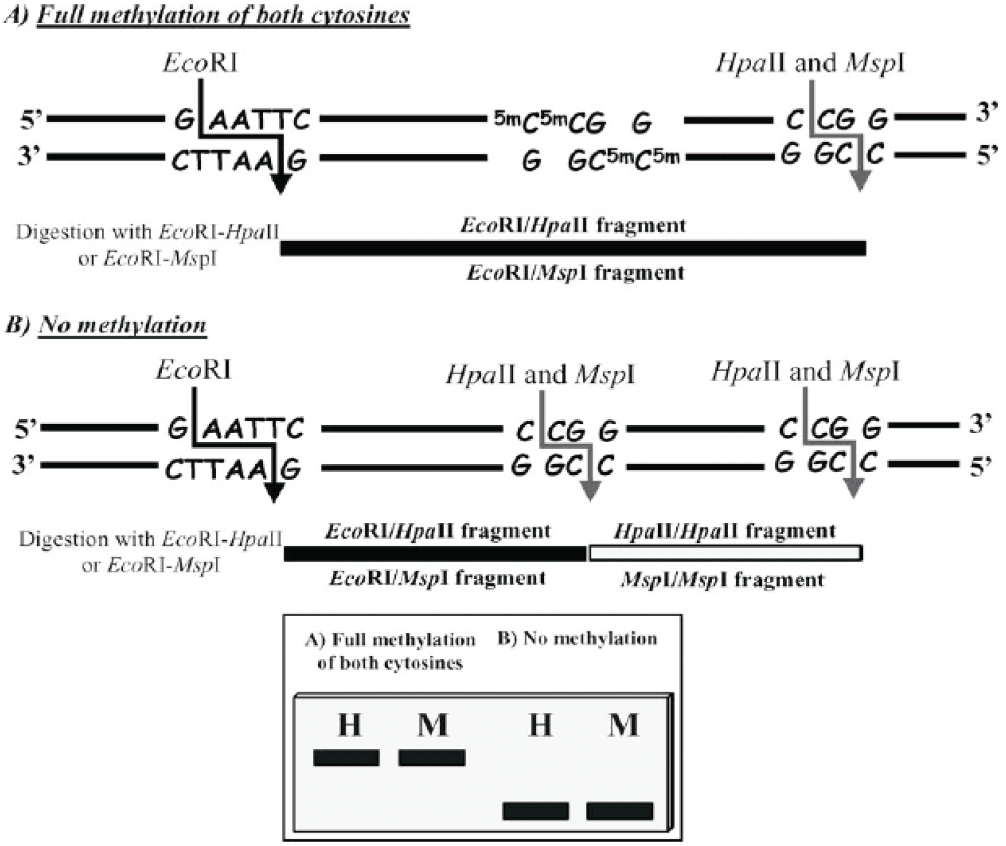

圖 2. 在 5'-CCGG 位置 DNA 去甲基化的範例。（A）當所有胞嘧啶完全甲基化時，用 *Msp* I 和 *Hpa* II 同時切割時，會產生大的片段（當只有外部的胞嘧啶完全甲基化時，也會有相同的情況產生）。（B）當 *Hpa* II / *Msp* I 限制切位未甲基化，則 *Msp* I 和 *Hpa* II 能切割而且會產生小片段（當內部的胞嘧啶產生半甲基化時，也會有相同的情況產生）。

Fig. 2. Example of DNA demethylation at the 5'-CCGG site. (A) When full methylation occurs at both external and internal cytosines 'large' fragments are originated with both *Msp* I and *Hpa* II (the same situation occurs when full methylation is present only at the external cytosine). (B) When the *Hpa* II/*Msp* I restriction site is unmethylated, both *Msp* I and *Hpa* II can cut and originate 'short' fragments (the same situation occurs in case of hemi-methylation at the internal cytosine).

(Portis *et al*. 2004)

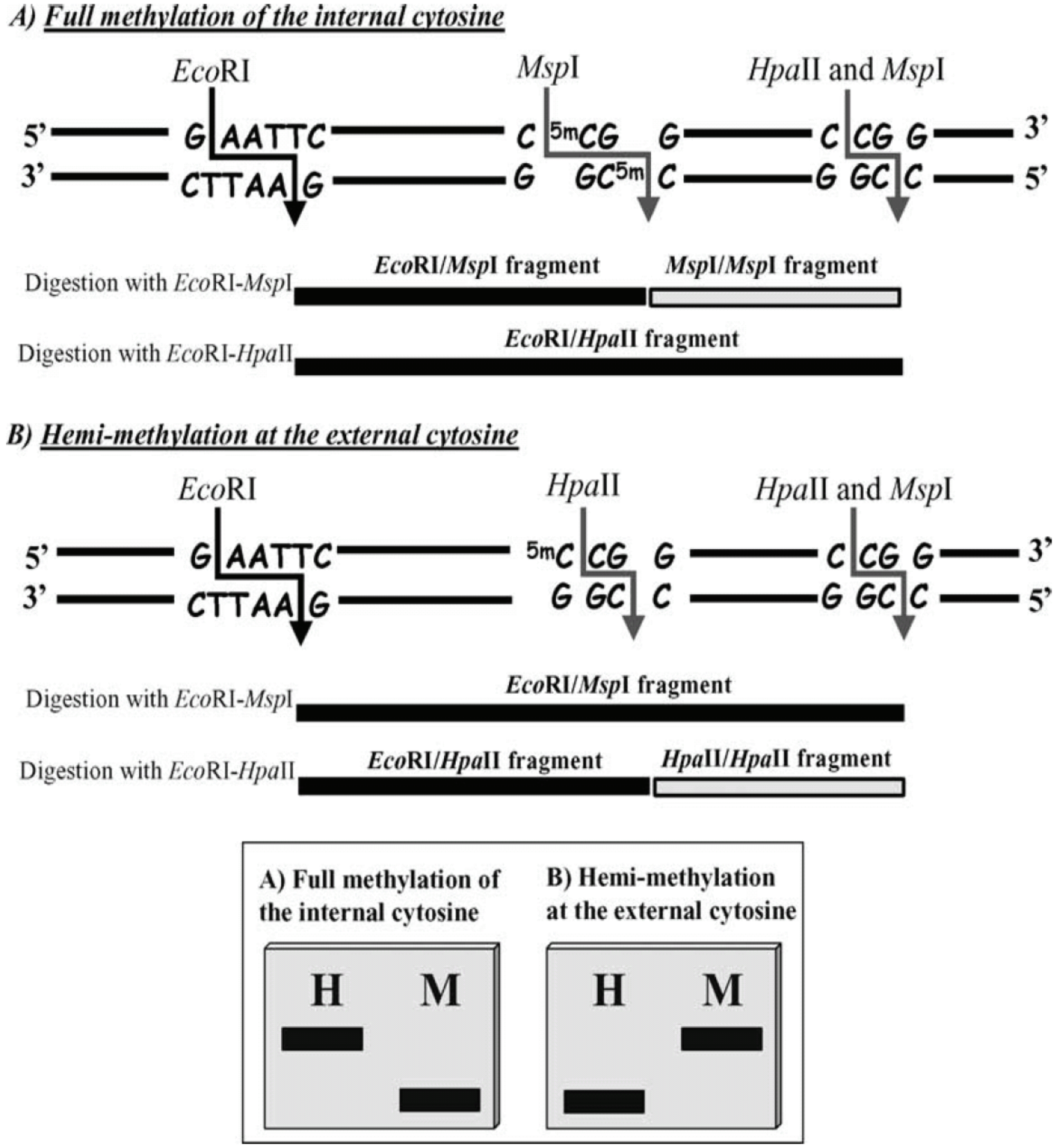

圖 3. 當在 5’-CCGG 位置產生不同形式的甲基化，利用 *Eco* RI–*Hpa* II 或 *Eco* RI–*Msp* I 切割的結果。（A）當內部的胞嘧啶產生完全甲基化，用 *Msp* I 能進行切割會產生短的片段，而 *Hpa* II 無法切割所以產生長的片段。（B）當 *Hpa* II / *Msp* I 切位的外部胞嘧啶是半甲基化時，*Msp* I 不能切割而會產生大的片段，*Hpa* II 可以切割而產生短的片段。

Fig. 3. Effects of digestions with *Eco* RI–*Hpa* II or *Eco* RI–*Msp* I on different types of methylation occur at the 5’-CCGG site. (A) When full methylation occurs at the internal cytosine, *Msp* I cuts originating ‘short’ fragments while *Hpa* II cannot cut and originates ‘large’ fragments. (B) When the *Hpa* II/*Msp* I restriction site is hemi-methylated at the external cytosine, *Msp* I cannot cut and originates ‘large’ fragments while *Hpa* II can cut, originating ‘short’ fragments.

(Portis *et al*. 2004)

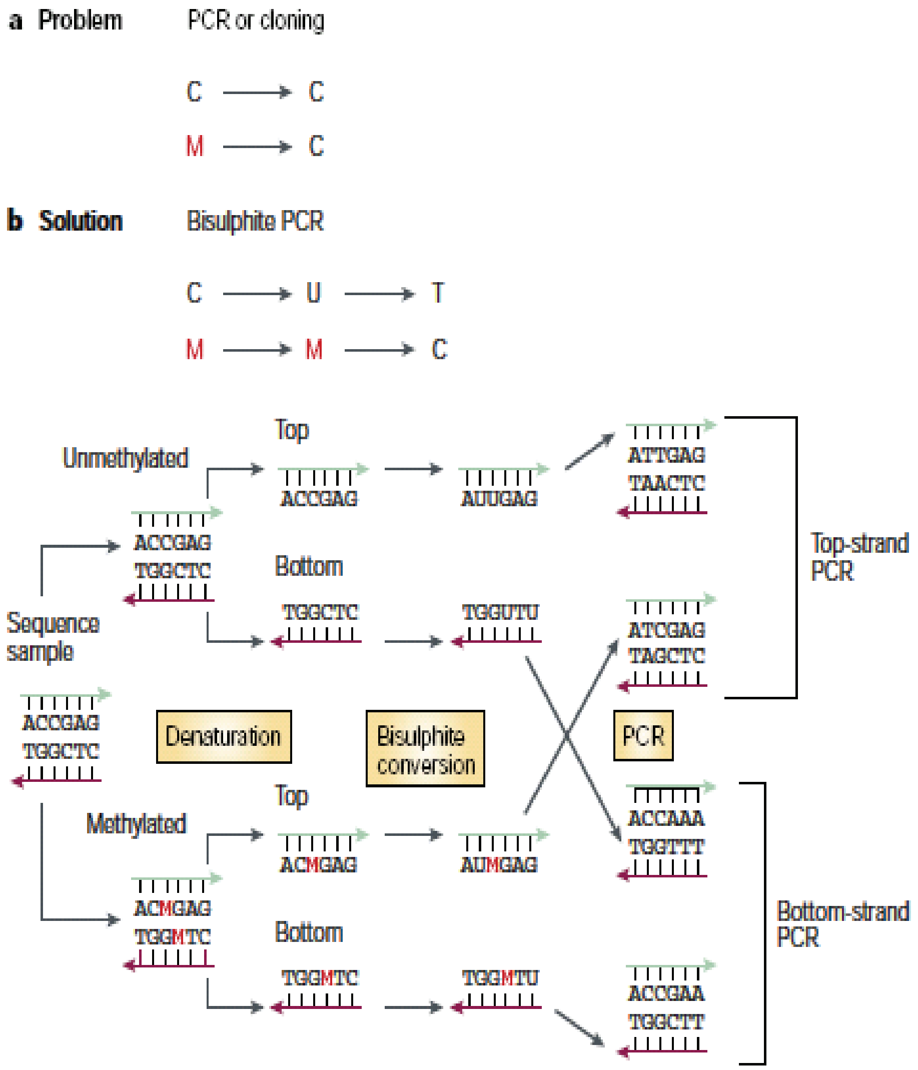

圖 4. 重亞硫酸鈉轉換偵測 DNA 甲基化的原理。以 PCR 及選殖等標準分子生物技術，分析基因座時，會將 DNA 甲基化的訊息遺漏，使得研究者通常會忽略存在於基因組 DNA 的上位遺傳訊息 (圖 a)。5-甲基胞嘧啶以紅色的 M 標示。能藉由甲基化敏感的限制酶去切割，或將基因組 DNA 處理重亞硫酸鈉 (圖 b) 把未甲基化的胞嘧啶 (C) 轉換為尿嘧啶（U）。MSP 即甲基特異 PCR。

Fig. 4. Principle of sodium bisulfite conversion. Standard molecular biology techniques to analyses gene loci, such as polymerase chain reaction (PCR) and biological cloning, erase DNA mehtylation information, leaving the investigator oblivious to the epigenetic information that was present in the original genomic DNA (panel a). 5-methylcytosine residues are indicated as red Ms. The solution to this problem is to modify the DNA in a mehtylation-dependent way before amplification. This can be achieved either by digestion with a methylation-sensitive restriction enzyme (not show), or by treating the genomic DNA with sodium bisulphate (panel b) which converts unmethylated cytosines to uracil residues. MSP, methylation-specific PCR.

（Laird 2003）

根據 Gonzalgo & Jones (1997)研究指出，以 Ms-SNuPE 法分析甲基化有幾個優點：(1)能進行定量分析；(2)不需利用限制酵素；(3)藉由利用多個引子設計的策略，在引子擴增反應下，能分析多個 CpG 位置；(4)可針對顯微解剖所取得的小量 DNA 進行分析，但是，此方法在 PCR 擴增後的定量上，是仰賴標定的放射性強度來測定，其靈敏度較差，為此方法的主要缺點。

組合重亞硫酸鹽限制分析法(combined bisulfite restriction analysis, COBRA)

Xiong & Laird (1997)發展了一套名為 COBRA 的方法，為一個定量技術，它能測定小量基因組 DNA 中，特定基因座 DNA 甲基化的程度。在重亞硫酸鈉處理 DNA 後，DNA 序列上的胞嘧啶(C)可以被轉換為胸腺嘧啶(T)，而甲基化胞嘧啶(^{m}C)則不會受到改變，會保留原來胞嘧啶(C)的型態，可利用限制酵素 *Bst* UI 或 *Taq* I 進行分析(圖 5 和圖 7)，限制酵素 *Bst* UI 可以辨識兩個 CpG 雙核苷酸(dinucleotides)，而 *Taq* I 只能辨認單個 CpG 雙核苷酸，在樣品中利用不同限制酵素之辨識所提供不同 DNA 甲基化程度的訊息，可進一步做校正。根據樣品(樣品 1、2 和 3)不同甲基化的程度(0、50 和 100%)

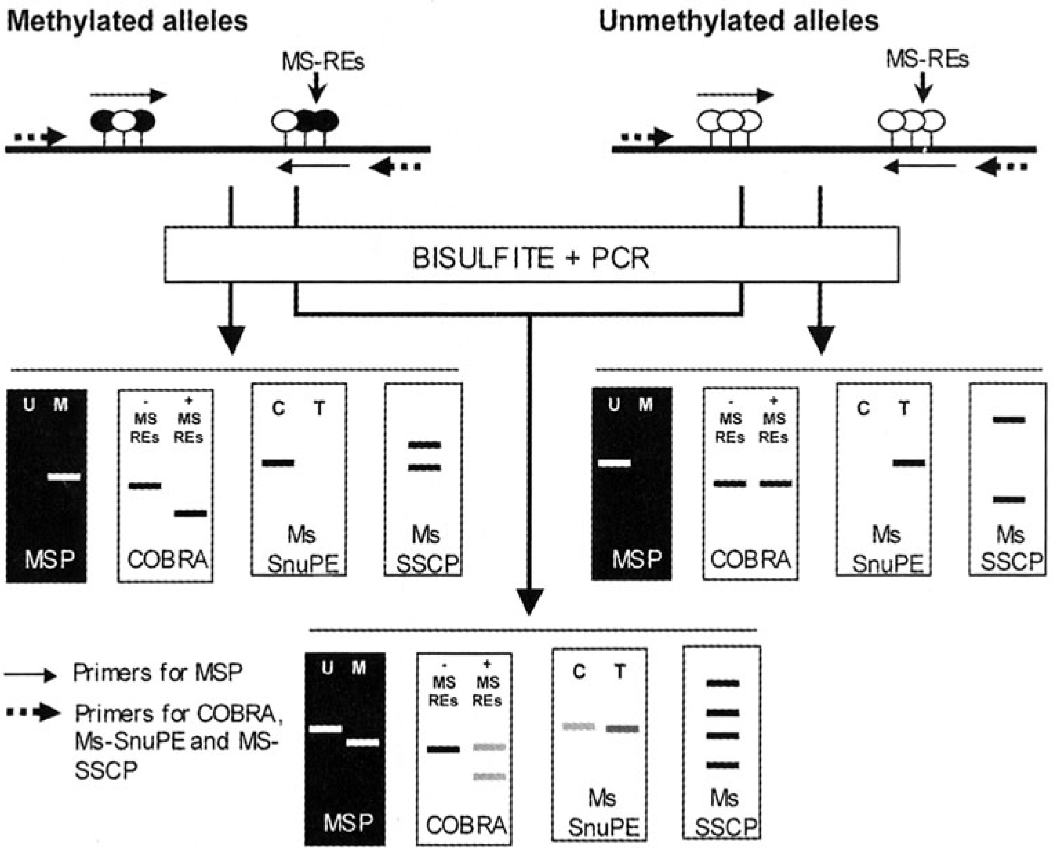

圖 5. 利用重亞硫酸鹽相關方法分析 DNA 甲基化、未甲基化和甲基化/未甲基化混合的三種對偶基因，(說明詳見內文)。
Fig. 5. Anticipated results of methylated, unmethylated, and mixtures of methylated/unmethylated alleles obtained by several bisulfite-related methods.

(Fraga & Esteller 2002)

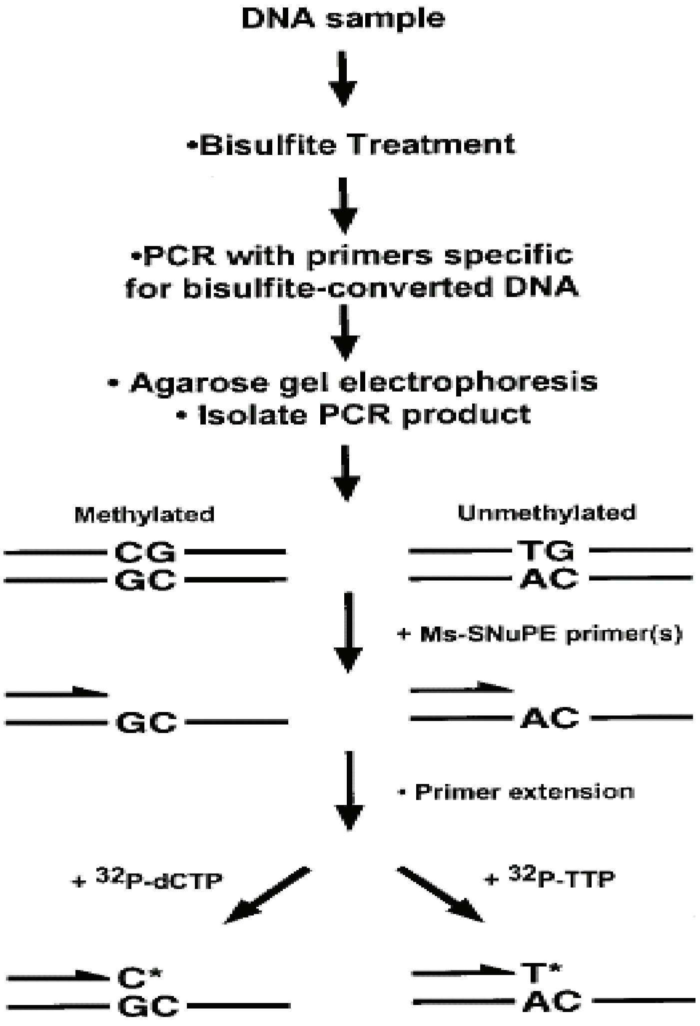

圖 6. 以 Ms-SNuPE 方法測定一股特定 DNA 胞嘧啶甲基化狀態概要圖。基因組 DNA 先處理重亞硫酸鈉，隨後目標序列再進行 PCR 以產生模版，去對頂端股進行甲基化分析，底端股甲基化也可以藉由設計適當的引子，以產生底端股的特定模版。PCR 的產物可以進行電泳，而產物可由膠片上分離，隨後利用 Ms-SNuPE 引子、緩衝液、^{32}P-dNTP 和 *Taq* 聚合酶進行引子延長反應。在變性情況下，放射性標定的產物在 15%聚丙烯醯胺凝膠進行電泳後，可以 X-光底片曝光或在磷屏影像定量分析儀下觀察結果。

Fig. 6. Outline for the determination of strand-specific methylation status at cytosines by the Ms-SNuPE assay. Genomic DNA is treated with sodium bisulfite followed by PCR of the target sequence to generate the template for top strand mehtylation analysis. Bottom strand methylation can also be assayed by designing the appropriate primers to generate bottom strand-specific template. PCR products are electrophoresed and isolated from agarose gels followed by incubation with the appropriate Ms-SNuPE primer(s), buffer, [^{32}P]dNTPs and Taq polymerase for the primer extension reaction. Radiolabeled products are then electrophoresed on 15% polyacrylamide gels under denaturing conditions and visualized by exposure to autoradiographic film or phosphorimage quantitation.

（Gonzalgo & Jones 1997）

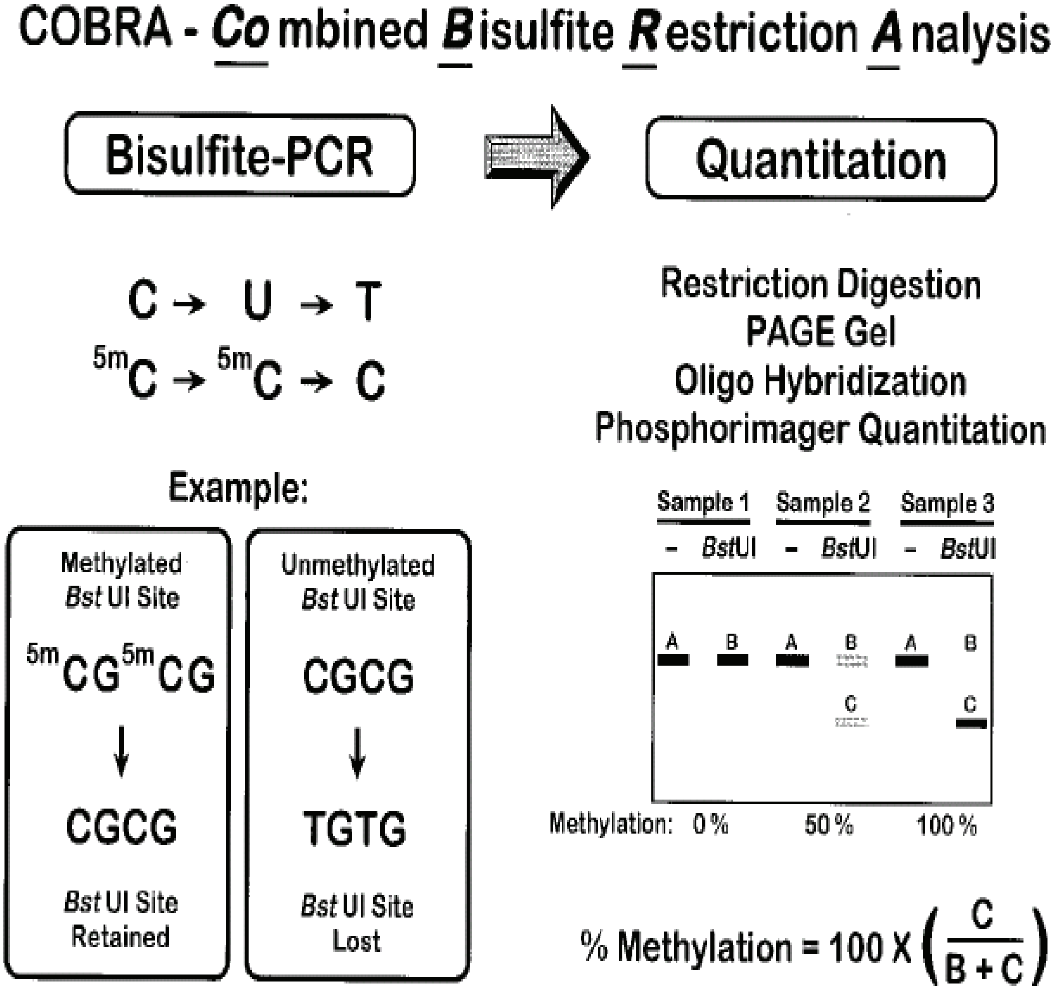

圖 7. COBRA 步驟概要圖。COBRA 的構成是由一個標準重亞硫酸鈉處理 PCR 後，接著進行限制酵素切割和定量。第一個步驟中，未甲基化的胞嘧啶（C）能被轉變為胸線嘧啶（T），而甲基化的胞嘧啶（^{m}C）則會維持原來的胞嘧啶（C）。圖解說明 *Bst*U I 限制切位的結果。經切割的 PCR 產物以變性的 8%聚丙烯醯胺凝膠分離，藉由電轉印法轉到膜上，用 5'端標定有放射性的寡核苷酸探針進行雜合反應，隨後可利用磷屏影像分析儀（Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA）進行定量分析。

Fig. 7. Outline of the COBRA procedure. COBRA consists of a standard sodium bisulfite PCR treatment followed by restriction digestion and quantitation step. During the first step, unmethylated cytosine residues are converted to thymine, whereas methylated cytosine residues are retained as cytosine. The consequences for the restriction site *Bst*UI are illustrated, The digested PCR products are separated on a 8% denaturing polyacrylamide gel and transferred to Zetabind charged membrane (American Bioanalytical) by electroblotting. The membranes are then hybridized with 5'-end-labeled oligonucleotides. Quantitation is performed with a Molecular Dynamics PhosphorImager.

（Xiong & Laird 1997）

，利用限制酵素 *Bst* UI 進行切割後，經電泳分析，發現條帶大小會因甲基化程度不同而異(圖 7)，而根據磷屏影像分析儀（Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA）可以針對不同樣品 DNA 甲基化的情形作定量分析。

根據 Xiong & Laird (1997)利用 COBRA 法研究人類直腸癌結果指出，用 COBRA 研究樣品 DNA 甲基化的優點為：(1)可以對 DNA 甲基化的情形作準確的定量分析；(2)適合應用在埋蠟切片組織的分析；(3)可應用在大量樣品的分析；由於使用的方法快速簡單，在 DNA 甲基化分析的領域已受到重視。

結　　論

DNA 甲基化與遺傳突變相比較，顯示在 DNA 序列上的胞嘧啶受甲基化，在不牽涉 DNA 鹼基的改變，就可能會改變基因的表現。為了著手研究特定基因受甲基化的情形，近年來發展的技術在質或量上，針對基因組受甲基化的情形獲取相關的資訊。傳統偵測 DNA 甲基化的技術可提供胞嘧啶在 DNA 序列中，被甲基化的情形進行研究，但是由於可辨識甲基化之限制酵素有限，造成解析度不佳，進而發展結合重亞硫酸鹽的技術，研究 DNA 受甲基化的程度，由於 DNA 經重亞硫酸鹽處理後，會改變 DNA 的鹼基型態(C 變為 T)，可搭配限制酵素(如: COBRA 技術)或 PCR(如: MSP 技術)的使用，針對特定基因或整個基因組之甲基化的差異進行探討。綜合 DNA 甲基化之研究結果，目前所發展的非重亞硫酸鹽或重亞硫酸鹽技術，均可提供做為檢測 DNA 甲基化的基礎，我們可再配合限制酵素、PCR 或定序的原理，獲得定量或半定量的資料，可針對特定基因序列 CpG 受甲基化的密度或分佈進行分析探討，甚至可以利用螢光標定進行定量分析，不需電泳及放射性的操作下，就可探討 CpG 位置受甲基化的總數或異質的基因序列受甲基化的情形。未來 DNA 甲基化的偵測技術若朝向高效能的方法開發未來，將可允許大量樣品被同時分析與篩選，能幫我們對上位遺傳(epigenetics)在基因表現之影響有更深入的了解。

引用文獻

Eads, C. A., K. D. Danenberg, K. Kawakami, L. B. Saltz, C. Blake, D. Shibata, P. V. Danenberg, and P. W. Laird. 2000. MethyLight: a high-throughput assay to measure DNA methylation. Nucleic Acids Res. 28:E32.

Finnegan, E. J. and K. A. Kovac. 2000. Plant DNA methyltransferases. Plant Mol. Biol. 43:189-201.

Fraga, M. and M. Esteller. 2002. DNA Methylation: A profile of methods and applications. Biotechniques 33:632-649.

Gonzalgo, M. L. and P. A. Jones. 1997. Rapid quantitation of methylation differences at specific sites using methylaiton-sensitive single nucleotide primer extension (Ms-SNuPE). Nucleic Acids Res. 25:2529-2531.

Herman, J. G., J. R. Graff, S. Myöhänen, B. D. Nelkin, and S. B. Baylin. 1996. Methylation-specific PCR: A novel PCR assay for methylation status of CpG islands. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93:9821-9826.

Laird, P. W. 2003. The power and the promise of DNA methylation markers. Nat. Rev. Cancer 3:253-266.

Portis, E., A. Acquadro, C. Comino, and S. Lanteri. 2004. Analysis of DNA methylation during germination of pepper (*Capsicum annuum* L.) seed using methylation-sensitive amplification polymorphism (MSAP). Plant Sci. 166:169-178.

Xiong, Z. and P. W. Laird. 1997. COBRA: a sensitive and quantitative DNA methylation assay. Nucleic Acids Res. 25:2532-2534.

Progress and Application of DNA Methylation Detection[1]

Yu-Chia Hsu[2] , Hsin-Mei Ku[3] and Chang-Sheng Wang[4,5]

Summary

Hsu, Y. C., H. M. Ku, and C. S. Wang. 2005. Progress and application of DNA methylation detection. J. Taiwan Agric. Res. 54:71-82.

In genome, the DNA methylation levels are closely related with gene expression. Therefore, the analysis of DNA methylation has become an important field in molecular biology. Recently, the non-bisulfite and bisulfite techniques have been developed to detect the methylation of DNA. In the non-bisulfite treatment of DNA mehtylation analysis called methylation-sensitive amplified polymorphism (MSAP) which combines the amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique with the application of restriction enzymes that are sensitive to methylation on the recognition sequences. The method is based on the utilization of isoschizomer enzymes that differ in their sensitivities to methylation to determine whether the methylation pattern with is full methylation, hemi-methylation or unmehtylation on specific DNA sequences. The MSAP method is mainly limited when the cytosine present on isoschizomer site, because it can not detect a number of cytosine methylation on DNA sequence and results in underestimation of DNA methylation. In the bisulfite treatment of DNA mehtylation detection, the methylation-specific PCR (MSP) technique is generally applied to study the methylation of CpG island. Primer design is a crucial step to the MSP technique, making this technique very sensitivity, allowing detecting small amounts of DNA methylation in the sample. MSP can also be applied to analyze large numbers of paraffin-embedded and microdissected samples. The methylation-sensitive single nucleotide primer extension (Ms-SNuPE) technique allows us to detect DNA methylation by using single nucleotide primer applying to the genomic DNA treated with sodium bisulfite to amplify and estimate the difference of methylation on specific CpG sites. With this method, DNA methylation can be quantified without using restriction enzymes, and the methylation at multiple CpG sites can be detected in a single reaction by using a multiplex oligonucleotide strategy. Low sensitivity is the mainly drawback of Ms-SNuPE technique. The recent developed COBRA (combined bisulfite restriction analysis) technique is a quantitative DNA methylation method. It can detect the methylation levels of specific locus in small amounts of genomic DNA, and accurate quantitative analysis on DNA methylation sequence. Furthermore, it can also apply to analyze a large amount of samples and paraffin-embedded tissue samples. Therefore, the application of COBRA technique in DNA methylation analysis has arose great attention.

Key words: Methylation, CpG island, Non-bisulfite, Bisulfite.

---

1. Contribution No.2227 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: June 30, 2005.
2. Graduate Student, Department of Agronomy, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Assistant Professor, Department of Agronomy, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Senior Agronomist, Agronomy Division, ARI, Wufeng , Taichung, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author, e-mail: cswang@wufeng.tari.gov.tw；Fax: (04)23302806.

台灣農業研究(J. Taiwan Agric. Res.) 54:83~92 (2005)

甘藷台農 72 號烤藷品質之研究 [1]

利幸貞[2] 陳一心[3,4]

摘 要

利幸貞、陳一心。2005。甘藷台農 72 號烤藷品質之研究。台灣農業研究 54:83-92。

甘藷品種台農 72 號烤藷表皮紅色，肉色橙黃色，食用時烤藷表皮容易剝離，質地呈偏粉質特性。影響台農 72 號烤藷甜味的可溶性糖成分主要取決於麥芽糖與蔗糖含量的高低，烤藷中蔗糖含量的多寡受原料生藷大小影響，呈顯著正相關。就其烤藷的食味品質表現與因應市場對烤藷的消費習慣而言，塊根大小以中藷最適合，品質優於大藷及小藷。貯藏處理主要影響烤藷乾物率的改變，烤藷中水分含量提高，乾物率下降。貯藏期間烤藷的麥芽糖、蔗糖含量並無明顯的變化，處理間甜度差異並不顯著。

關鍵詞：甘藷、烤藷、食味品質、甜度。

前 言

甘藷新品種台農 72 號由嘉義農業試驗分所自 86 年秋作之多向雜交集團後裔選出並於 92 年 3 月經農委會新品種審查委員會命名為台農 72 號，商品名為黃金香藷。塊根呈紡錘形，表皮紅色且光滑，表皮脈少，皮目淺，無縱溝，肉色為橙黃色。營養成分相當豐富，尤其胡蘿蔔素含量高達 3773 IU/100g(賴等 2003)。因應國人膳食結構迭變與加入國際貿易組織後對農業之衝擊，減輕市場開放後本土作物所面臨之壓力，加強甘藷品種改良與推出更精緻、更具市場價值之加工產品來吸引消費者，為現今甘藷產業最可行的方案。甘藷新品種台農 72 號便是以著重食用及加工品質與營養價值的改進為目的選育而成。甘藷產品加工利用之多樣性研發能提高其經濟價值，其中又以烤藷被認為較具有展發潛力(李&廖 1994)；本試驗就甘藷新品種台農 72 號為材料進行烤藷品質特性之研究，以供產業利用參考。

材料與方法

本試驗以甘藷新品種台農 72 號為材料，取具 7 至 8 個節數之先端苗於 92 年秋作種植於嘉義分所試驗田，試區畦長 10m，行距 1m，株距 0.25m，畦高約 30 至 40cm；肥料用量約每公頃氮肥 80kg，磷肥 40kg 及鉀肥 160kg，第一次在整地作畦時施用磷肥全量及氮和鉀肥的半量作為基肥，於插植後 30 至 40 天將所剩半量氮和鉀肥作為追肥施用。田間病蟲害管理措施依一般甘藷栽培法進行(李

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2226 號。接受日期：94 年 6 月 19 日。
2. 本所嘉義分所農藝系助理研究員。臺灣　嘉義市。
3. 本所嘉義分所農藝系研究員。臺灣　嘉義市。
4. 通訊作者，電子郵件：Chenyisn@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2774009。

1985)，生育日數約 150 天於 93 年 3 月初採收後進行藷形與大小之篩選，樣品作為烤藷外觀、甜味組成分與質地特性之分析。

生藷塊根大小對烤藷品質的影響

採收後之甘藷塊根依生藷重量 120-150g、200-250g 及 400-600g 分為 3 個等級，各挑選 10 個，分別記錄各塊根重量，以清水洗淨表皮，置入烤箱待烘烤完成，取出置於室溫下冷卻。先記錄烤藷重量後再切取各烤藷中段部位 3cm (距塊根中心點左右各 1.5cm 處橫切)範圍，剝去表皮，攪拌成均勻之藷泥後作為分析之樣品，共 30 個樣品各 3 重複。

貯藏試驗

甘藷台農 72 號採收後挑選生藷重量 150g 至 250g 之塊根 15 個，分別記錄鮮重後置於冷藏庫貯藏(溫度 15℃，相對濕度 RH85-90%)，貯藏處理為 0 天(未貯藏)、30 天、60 天。在各貯藏期取 5 個樣品先稱其鮮重記錄各塊根在貯藏期間生藷重量減少情形並在烘烤後，再調查其烤藷重量。烤藷取樣部位為切取中段 3cm (距塊根中心點左右各 1.5cm 處橫切)範圍，剝去表皮，攪拌成均勻之藷泥後進行分析，共 45 個樣品各 3 重複。

化學成份分析

麥芽糖、果糖、葡萄糖與蔗糖之含量測定(唐 2002)：取烤藷攪拌均勻之藷泥 1g 置於 20ml 之玻璃試管中，加入 4ml 之 80% 酒精於 80℃、100 轉的震盪水浴鍋中 15 分鐘，重複萃取三次，所得液體過濾後於離心管內以 1600g 離心 15 分鐘，上清液置入濃縮試管中進行減壓濃縮，以 LiChrolut RP-18(40~63 μ m)column.抽氣過濾，濾液以 HPLC 測定。HPLC 分析系統包括：Shimadzu LC-9A pump、RID-9A detector、CTO-10AS oven。以 TSKgel Amide-80 column(4.6 mm ID×25cm)檢測，移動相為 80% 氰甲浣(CH_3CN)：20% H_2O，流速為 1.2ml/min，TSKgel Amide-80 column 溫度設定 40℃。

澱粉含量測定(唐 2002)：上述經過酒精萃取後的殘渣於烘箱以 70℃烘乾，乾燥樣品加入 5ml 去離子水，於 100℃、100 轉的震盪水浴鍋中加熱 30 分鐘，待冷卻，加入 2ml 之 9.2N 過氯酸($HClO_4$)放置 15 分鐘，期間不時攪拌，定積至 10ml，以 2500g 離心 10 分鐘，取上清液 0.1ml 加入 1.9ml 去離子水、0.1ml 石炭酸(phenol)及 6ml 濃硫酸，振盪均勻後靜置 30 分鐘，以光電比色計波長 490nm 測定吸光值。

烤藷水分含量測定(段＆楊 1988)：取 5g 藷泥置於烘箱，70℃烘乾 24 小時，稱重計算。

粗纖維含量測定：取烤藷攪拌均勻之藷泥 1.0g 置入濾袋(F57 Filter Bags ANKOM Technology)，空濾袋須先稱重，將裝有樣品之濾袋放入粗纖維含量測定儀器之坩鍋內(Filter-Crucible FOSS)，加入 85℃之 H_2SO_4，煮 30 分鐘後排掉 H_2SO_4，以沸水清洗一次，再以 80℃KOH 煮 30 分鐘，排掉後再以沸水清洗一次。將裝有殘渣之濾袋於烘箱中以 120℃烘乾 2 小時，取出置於乾燥箱內，待冷卻後稱重；其後再以 600℃灰化 3 小時，再稱重計算。

甘藷質地物理特性測定(利＆陳 2004)：利用組織質地分析儀(STEVENS-LFRA TEXTURE ANALYZER，Germany)檢測甘藷台農 72 號烤藷之物理質地特性。設定值為 Speed：0.5mm/sec；Model：normal；Probe：diameter 6mm；記錄器(STEVENS L 250E，Germany) 設定值為 speed：2.0mm/sec。

統計分析

本研究之資料藉統計軟體 SAS／STAT(V 8.0)所提供之程序 Proc CORR 及 Proc RER 分別進行相關及迴歸分析。

結　　果

甘藷品種台農 72 號烤藷特性

烤藷外觀表皮呈紅色，肉色橙黃色，烤藷表皮容易剝開(圖 1)，口感質地偏粉質，因表皮較厚實，探針需較大的壓力才能穿透。分析甘藷台農 72 號烤藷中主要的可溶性糖含量以麥芽糖最高，供試樣品含量由 5.332~22.982%，其次是蔗糖，含量由 2.536~4.256%，葡萄糖和果糖含量低，含量分別是葡萄糖 0~0.674%及果糖 0~0.169%(樣品成分含量低於 0.01%，無法檢測)。烤藷水分含量 46.5 ~55.88%，乾物率 44.12 ~53.5%，澱粉含量 4.88~12.815%，粗纖維 5.5~11.1%。

生藷塊根大小對烤藷品質的影響

甘藷台農 72 號烤藷重量變化依原料生藷大小不同有顯著差別。小藷(平均重 124.1g)烤後所得之烤藷重量為原生藷重量的 67%，烤藷失重率(即烤後之烤藷較原生藷重量減少之百分比)高達 33%，烤藷平均重量 82.8g；中藷(平均重 238.1g)烤後所得之烤藷重量為原生藷重的 73%，烤後失重率 27%，烤藷平均重量 174.0 g；大藷(平均重 456.2g)烤後所得之烤藷重量為原生藷重的 76%，烤後失重率最低為 24%，烤藷平均重量 350.9g。分析不同大小之烤藷乾物率，以小藷含量最高為 51.5%，其次是中藷為 49.4%，而大藷最低為 46.3%，三者差異顯著。烤藷中水分含量以大藷最高為 53.7%，其次是中藷為 50.6%，小藷最低為 48.5%，三者差異顯著(表 1)。

圖 1. 甘藷品種台農 72 號之烤藷。
Fig. 1. The baked sweet potato TNG72.

烤藷中麥芽糖的含量以中藷最高，平均含量為 17.755%，其次是大藷平均含量為 14.265%，二者差異不顯著；而小藷最低，平均含量為 9.894% ，與大、中藷有顯著差異。蔗糖的含量以中藷最高，平均含量為 3.808%，其次是大藷平均含量為 3.698%，二者差異不顯著；而小藷最低，平均含量為 2.777% ，與大、中藷差異顯著。葡萄糖含量以小藷最低，大、中藷較高，平均含量分別是 0.100%、0.257%及 0.238%，但三者無顯著差異。果糖含量則以中藷最高，平均含量 0.071%，其次是小藷，平均含量 0.033%，大藷含量則低於 0.01%，三者間差異顯著。總糖量以中藷最高，其次是大藷，但二者無顯著差異；而小藷最低，與大、中藷差異顯著。澱粉含量小藷平均含量為 10.107% ，顯著高於大藷之平均含量 7.65% 與中藷之平均含量 7.744% ，而中、大藷間則差異不顯著。粗纖維含量以小藷較高平均含量為 9.58% ，其次是中藷平均含量為 8.16% ，大藷較低平均含量為 7.28% ，三者間差異不顯著(表 2)。

貯藏對烤藷品質之影響

貯藏期間生藷鮮重隨著貯藏日數增長而減少，貯藏 30 天塊根鮮重減少約 6%，貯藏 60 天後鮮重減少約 10%。比較以不同貯藏日數處理後再烘烤之烤藷，其失重率以未貯藏處理者(CK)顯著最高為 34.1%，以貯藏 30 天後之甘藷為原料烘烤，失重率為 25.81%，貯藏 60 天處理為 27.01%。烤藷乾物率以未貯藏處理(CK)最高為 55.4%，貯藏 30 天處理為 50.42%，貯藏 60 天處理為 51.1%。塊根經過貯藏可提高烤藷的水分含量，但貯藏 30 天與 60 天處理間則無顯著差異。三個貯藏處理之烤藷所含麥芽糖、蔗糖並無顯著差異，葡萄糖則隨著貯藏日數延長而增加，三個處理間差異顯著；果糖則以貯藏 60 天處理含量最高，未貯藏處理(CK)與貯藏 30 天處理間則差異不顯著。貯藏 60 天之烤藷總糖量雖然有增加，但三個處理間甜度高低無顯著差異(圖 2)。澱粉及粗纖維含量三個處理間亦差異不顯著。

表 1. 生藷塊根大小對烤藷重與烤藷水分含量之比較
Table 1. Comparison among the tuber weight and water contents of three fresh tuber size of baked sweet potato TNG72

Fresh tuber size	Fresh tuber weight (g)	Baked tuber Tuber weight (g)	Lost weight base on fresh tuber (%)	Water content (%[z])	Dry weight (%)
L[y]	456.2 a[x]	350.9 a	23.7 c	53.7 a	46.3 c
M	238.1 b	174.0 b	27.0 b	50.6 b	49.4 b
S	124.1 c	82.8 c	33.3 a	48.5 c	51.5 a

[z] fresh weight.
[y] The sample size of sweet potato TNG72. L：Fresh tuber weight 400-600 g；M：Fresh tuber weight 200-250 g；S：Fresh tuber weight 120-150 g.
[x] Means followed by the same letter within each column are not significantly different at 5% level by DMRT.

表 2. 生藷塊根大小對烤藷可溶性糖、澱粉及粗纖維含量之比較
Table 2. Comparison among the chemical compositions of three fresh tuber size of baked sweet potato TNG72

Sample size	Maltose (g/100g[z])	Sucrose (g/100g)	Glucose (g/100g)	Fructose (g/100g)	Total sugar (g/100g)	Starch (g/100g)	Crude fiber (g/100g)
L[y]	14.265 a[x]	3.698 a	0.257 a	0.010 c	18.673 a	7.650 b	7.28 b
M	17.755 a	3.808 a	0.238 a	0.071 a	21.868 a	7.744 b	8.16 b
S	9.894 b	2.777 b	0.100b	0.033 b	12.806 b	10.107 a	9.58 a

[z] fresh weight.
[y] The sample size of sweet potato TNG72. L：Fresh tuber weight 400-600 g；M：Fresh tuber weight 200-250g；S：Fresh tuber weight 120-150g.
[x] Means followed by the same letter within each column are not significantly different at 5% level by DMRT.

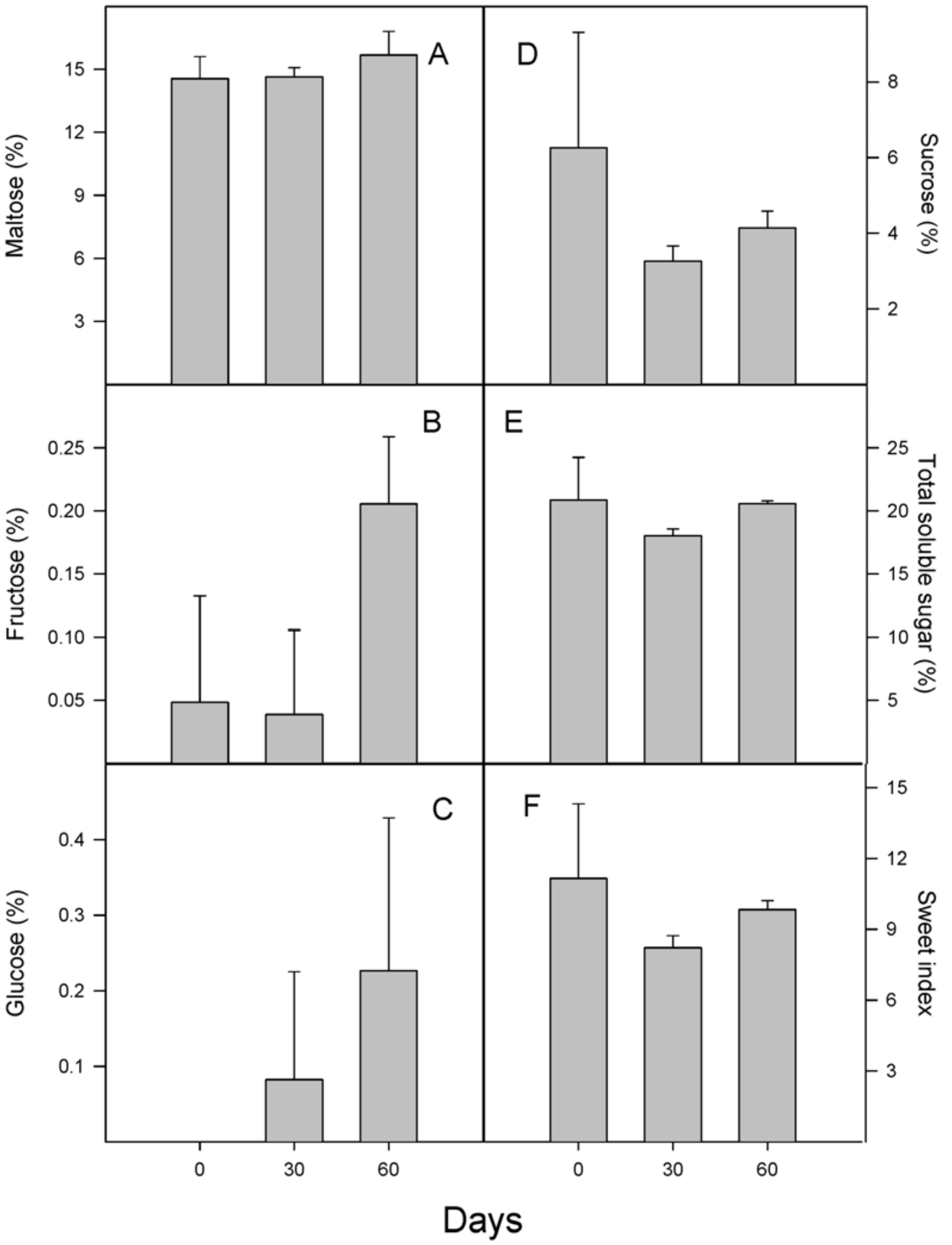

圖 2. 貯藏對甘藷台農 72 號品種烤藷甜度成分之影響。

Fig. 2. Effects of storage period on sweetness of baked sweet potato TNG72.

A. Maltose；B. Fructose；C. Glucose； D. Sucrose；E. Total soluble sugars；F. Sweetness. (fresh wt.)

討 論

藉由影響甘藷台農 72 號烤藷食味品質之理化特性因子之相關性分析結果(表 3)，原料生藷大小直接影響烤藷重量呈顯著正相關，但在烘烤過程中塊根重量的減少量(烤藷失重率)則與原料生藷大小呈極顯著負相關，即生藷塊根越小，烘烤後之烤藷重量減少程度越多，因此若以重量單位為考量則小藷產值較低。

影響烤藷感官食味(taste)最重要的項目是甜味(sweetness)(Picha 1985；1986)，而烤藷的甜味是由麥芽糖、蔗糖、葡萄糖與果糖依相對甜度值(maltose：sucrose：glucose：fructose＝0.33：1：0.74：1.73)換算累計組成(Biester *et al.* 1925)。試驗分析結果，甘藷台農 72 號烤藷甜味高低與麥芽糖、蔗糖相關性密切，麥芽糖對甜味的影響顯著水準達 0.968，蔗糖顯著水準為 0.78 且均呈正相關，而葡萄糖與果糖含量對台農 72 號烤藷甜味則無明顯相關性，亦即會影響烤藷甜味的可溶性糖成分主要取決於麥芽糖與蔗糖含量高低，葡萄糖與果糖則因含量極少，對甜味的貢獻極微。Picha(1985)的研究指出甘藷烘烤後，烤藷中蔗糖含量與在生藷(fresh tuber)狀態下兩者無明顯改變，但麥芽糖在生藷中沒有發現，烘

表 3. 影響甘藷台農 72 號烤藷食味品質之理化特性因子相關分析
Table 3. Correlation analysis between fresh tuber weight, and taste components, chemical compositions in baked sweet potato TNG72

Fresh tuber weight	Baked tuber weight	Weight lost	Water content	Dry weight	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Starch	Sweetness	Crude fiber
Fresh tuber weight	0.999[z] ***	-0.804 ***	0.761 ***	-0.758 ***	-0.235 ns	0.219 ns	0.514 **	0.235 ns	-0.577 **	0.259 ns	-0.542 **
Baked tuber weight		-0.814 ***	0.756 ***	-0.753 ***	-0.237 ns	0.214 ns	0.516 **	0.232 ns	-0.572 **	0.257 ns	-0.542 **
Weight lost			-0.572 **	0.571 **	0.155 ns	-0.237 ns	-0.608 **	-0.389 *	0.422 *	-0.424 *	0.498 **
Water content				-0.999 ***	-0.358 *	0.006 ns	0.351 ns	0.071 ns	-0.735 ***	0.064 ns	-0.466 **
Dry weight					-0.359 *	-0.007 ns	-0.350 ns	-0.072 ns	0.736 ***	-0.065 ns	0.466 **
Fructose						0.390 *	0.182 ns	0.266 ns	0.202 ns	0.342 ns	0.122 ns
Glucose							0.288 ns	0.211 ns	-0.008 ns	0.315 ns	-0.089 ns
Sucrose								0.650 ***	-0.451 *	0.780 ***	-0.444 *
Maltose									-0.321 ns	0.968 ***	-0.259 ns
Starch										-0.326 ns	0.574 **
Sweetness											-0.285 ns
Crude fiber											

[z] ns, *, **, ***, indicate non significant, significant at 0.05, 0.01 and 0.0001 levels, respectively.

烤後則大量產生。本試驗結果顯示原料生藷大小會影響烤藷中蔗糖的含量高低，且呈顯著正相關，即塊根較大，生藷中蔗糖含量亦會較多，有利於烤藷甜味的提高。此外，葡萄糖、果糖則與原料生藷大小無顯著相關性。

在烤藷質地口感表現上，康(1987)之研究顯示甘藷在加工過程中風味及質地的改變與澱粉有密不可分的關係。李＆廖(1994)研究指出澱粉含量會影響甘藷蒸煮後的質地與適口性；陳(1987)報告中亦指出當甘藷糊細胞中仍存有大量未被水解之澱粉時，細胞易維持形狀且水分被澱粉吸收而呈粉質，反之，當甘藷糊內之澱粉被酵素大量水解產生單寡糖類而溶解於水中，使得甘藷糊產生許多空細胞且流動性增大則呈泥質。本試驗分析結果，甘藷台農 72 號烤藷所含的澱粉及粗纖維多寡與原料生藷大小呈顯著負相關，澱粉含量則與乾物率呈顯著正相關。即生藷塊根越小，烘烤後所得之烤藷澱粉含量越高，粗纖維含量也相對較多，粉質性程度提高，因甜度較低，烤藷風味與口感不及中藷與大藷。而烤藷水分含量則與生藷塊根大小呈極顯著正相關。

選擇生藷重量較大的塊根雖有助於烤藷蔗糖量的提高，但由圖 3 之迴歸分析顯示甘藷台農 72 號烤藷中麥芽糖與蔗糖含量並不是隨著塊根增大呈直線型無限增加，大藷反而有降低的趨勢，可能是因塊根生長發育至肥大期階段後光合產物的累積減緩，而在成熟期階段細胞中水分持續吸收而影響所含可溶性糖之濃度的結果所致。烘烤後可溶性糖與甜味含量由圖 3 結果顯示，烤藷甜味度表現以中藷優於大藷及小藷，食味品質最佳。

台農 72 號經過貯藏處理後再烘烤之烤藷其烤藷失重率較未貯藏處理(CK)低，應是因塊根所含水分大部分在貯藏期間就已自生藷中損失。根據試驗期間的調查，生藷塊根在貯藏 30 天時重量已減少約 6%，在貯藏 60 天時則重量持續減少約 4%，主要是塊根中水分含量的變化。生藷烘烤後之烤藷重量減少，源自於加熱過程中塊根水分的散失，經過貯藏處理之塊根本身含水分量原就較未貯藏者低，在烘烤時能被加熱所抽離的水分量亦相對較少。

生藷塊根貯藏 30 天與 60 天處理其烤藷的麥芽糖、蔗糖含量並無明顯的改變，貯藏 60 天葡萄糖、果糖雖然增加，但對烤藷甜味則無影響。本試驗結果顯示貯藏處理主要影響甘藷品種台農 72 號烤藷品質的部分主要在於烤藷乾物率的改變，貯藏應有利於改善其烤藷質地粉質性太高對口感的不良影響。

甘藷台農 72 號烤藷不論藷型或表皮顏色表現佳，且因塊根表皮質地較厚實，食用時藷皮容易剝離，若需貯藏亦較其他品種容易維持外觀品質。就其烤藷的食味表現與因應市場對烤藷的消費習慣而言，以中藷為烤藷原料最適合，品質優於大藷及小藷。

引用文獻

李良。1985。甘藷栽培技術。八萬農業建設大軍訓練教材(技術類)。行政院農業委員會、台灣省政府農林廳編印。62 pp.

李良、廖嘉信。1994。台灣甘藷品種改良之成就與展望。p.11-28。根莖作物生產改良及加工利用研討會專刊。台灣農業試驗所嘉義分所。嘉義。

利幸貞、陳一心。2004。澱粉糖化酵素活性簡易測定在甘藷加工特性之應用。中華農業研究 53:18-26。

段盛秀、楊海明。1988。食品化學實驗。藝軒。台北。247 pp.

唐佳惠。2002。成熟度、離水時間和藥劑處理對非洲菊切花採收後生理及品質之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。台中。130 pp.

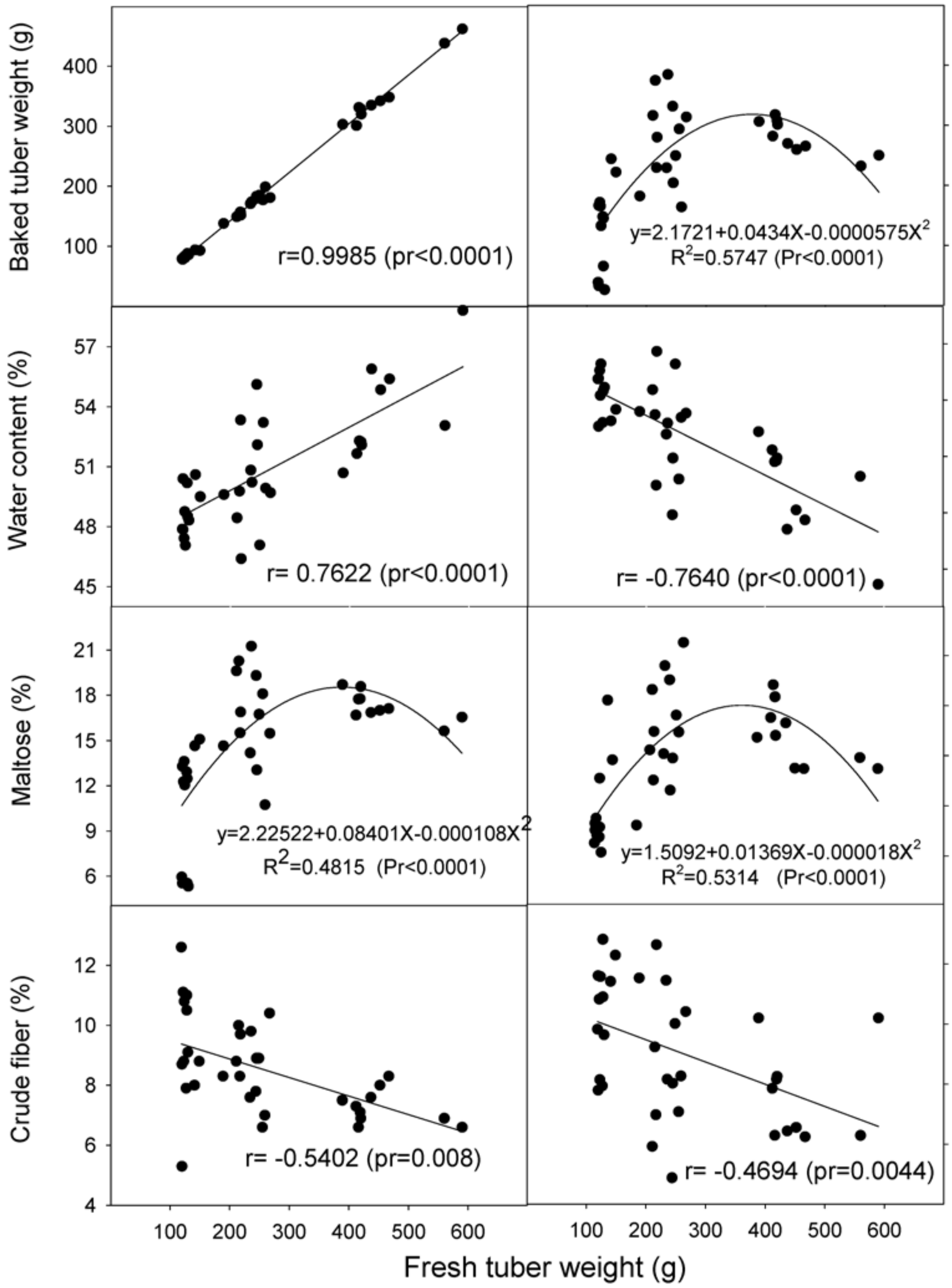

圖 3. 烤藷食味特性、化學組成分與鮮藷重量之相關。

Fig. 3. Correlations between taste components, chemical compositions in baked tuber and their fresh tuber weight in sweet potato TNG72.

陳克廉。1987。甘藷加工利用與質地特性之研究。國立台灣大學食品科技研究所博士論文。台北。194 pp.

賴永昌、李忠田、陳一心、程永雄、蔡金池。2003。甘藷新品種台農 72 號之育成。中華農業研究 52:247-257。

康藏文。1987。甘藷加熱過程質地變化因子之探討及甘藷糊之貯藏。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。71 pp.

Biester, A., M. W. Wood, and C. S. Wahlin. 1925. Carbohydrate studies I. The relative sweetness of pure sugars. Am. J. Physiol.73:387-396.

Picha, D. H. 1985. HPLC determination of sugars on raw and baked sweet potatoes. J. Food Sci. 50:1189-1190.

Picha, D. H. 1986. Sugar content of baked sweet potatoes from different cultivars and lengths of storage. J. Food Sci.51:845-846.

Study on the Taste Quality of Baked Sweet Potato Variety Tainung No. 72[1]

Hsin-Chen Lee[2] and Yi-Shin Chen[3,4]

Summary

Lee, H. C. and Y. S. Chen. 2005. Study on the taste quality of baked sweet potato variety Tainung No. 72. J. Taiwan Agric. Res. 54:83-92.

The appearance of baked sweet potato variety Tainung No.72(TNG72) is red and its flesh is orange-yellow. The skin peels easily and the quality shows powdery. The contents of maltose and sucrose influence the sweet level of baked tuber. The size of fresh tubers mainly influence the amount of sucrose in the baked tuber and shows positive relationship. The size of the fresh tuber influences the quality of baked tuber, and the quality of medium size (200g - 250g) is better than the larger and smaller tubers. Considering the taste and consumer's habits, the medium size of the fresh tuber is most suitable for baking. The storage treatments of the fresh tuber mainly influence the dry material ratio in the baked tuber and the taste.

Key words: Sweet potato , Baked tuber, Taste quality, Sweetness.

---

1. Coitribution No.2226 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: June 19, 2005.
2. Assistant Agronomist, Chiayi Agricultural Experiment Station, ARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
3. Senior Agronomist, Chiayi Agricultural Experiment Station, ARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: Chenyisn@dns.caes.gov.tw；Fax: (05)2774009.

台灣農業研究(J. Taiwan Agric. Res.) 54:93~102 (2005)

細胞分裂素與透氣性容器封口對丹參組培苗增殖與玻璃質化之影響[1]

陳威臣[2] 蕭翌柱[2] 蔡新聲[3] 夏奇鋌[4,5]

摘　要

陳威臣、蕭翌柱、蔡新聲、夏奇鋌。2005。細胞分裂素與透氣性容器封口對丹參組培苗增殖與玻璃質化之影響。台灣農業研究 54:93-102。

本研究藉由改善細胞分裂素與培養容器透氣性，探討丹參(*Salvia miltiorriza* Bunge)組培苗大量繁殖及抑制玻璃質化苗形成之方法。將丹參莖節培養於含有 1 mg/l 苄氨基嘌呤(benzyladenine, BA)與 0.1 mg/l 奈乙酸(α-naphthaleneacetic acid, NAA)之全量 MS (Murashige & Skoog)無基鹽類基本培養基中，可成功地誘導芽體形成及建立初代無菌丹參培養苗。無菌苗培養於添加 0.25 mg/l N-糠基腺嘌呤(N-furfuryladenine, kinetin)之全量 MS 基本培養基中，經 6 週培養後每個培植體可獲得 6.5 個芽體，優於 0.5 mg/l kinetin 與 0.5-1 mg/l BA 之處理，但所有處理之芽體均呈現玻璃質化。降低 MS 鹽類與 kinetin 濃度可部分改善玻璃質化苗的形成，其中以含有 0.2 mg/l kinetin 之 1/2MS 基本培養基處理下，每個培植體可獲得 5.6 苗較多，但仍有高達 46.6%玻璃質化苗形成。利用透氣性較高之藥包紙進行培養容器封口置換處理，可有效抑制丹參組培苗之玻璃質化，其中以雙層鋁箔紙封口培養 2 週，而後以三層藥包紙進行封口置換處理繼續培養 4 週，每個芽體可獲得 4.8 株正常苗之表現最佳，不僅能完全抑制玻璃質化苗形成，且苗長可達約 4.78 cm。綜合本研究結果，建議丹參組培苗可利用含有 0.2 mg/l kinetin 之 1/2MS 基本培養基進行組培苗增殖，同時配合上述培養方式之藥包紙進行培養容器封口置換處理，不僅可建立丹參組培苗大量繁殖方式，更可完全抑制組培苗玻璃質化的產生。

關鍵詞：丹參、藥用植物、微體繁殖、玻璃質化。

前　言

丹參(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)為唇形科(Labiatae)、鼠尾草屬多年生植物，其乾燥根部為治療「活血化瘀」之重要傳統中藥(那等 1989；Wu *et al*. 1998)。現代藥理研究亦證實丹參具有治療心血管疾病、降膽固醇、抗氧化、預防動脈硬化與抗菌消炎等作用，尤其對冠心病與心絞痛具有良好療效，晚近也

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2228 號。接受日期：94 年 7 月 17 日。
2. 本所農藝組助理研究員。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。
3. 朝陽科技大學生物技術研究所教授。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。
4. 本所農藝組副研究員。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。
5. 通訊作者，電子郵件：hsia@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04) 233302806。

被用於治療慢性肝炎與肝硬化(王等 1998；姜 1994；Hu *et al*. 1999)；此外，陳&凌(1999)與 Park *et al*. (1999)指出，丹參可抑制肝癌細胞生長，顯示丹參於臨床治療上的潛能不容忽視。

利用植物組織培養技術可於短期內繁殖大量種苗，且種苗一致性亦較種子繁殖為高；目前已成功利用組培技術大量繁殖不少藥用植物種苗，如金線連、柴胡、貝母、當歸、輪葉沙參、龍膽、何首烏與延胡索(蔡 1999；Nalawade *et al*. 2003；Nalawade & Tsay 2004；Nishioka 1988)。傳統丹參係利用分根或蘆頭法進行繁殖，無性繁殖種苗繁殖速率慢且極易感染病毒，因而造成作物品質變劣及藥材產量下降；加上藥材市場上常以偽藥或次級品混充，造成藥材品質難以均一(宋等 1998；郭等 2002；張等 2003)。現今臺灣之丹參藥材皆仰賴進口，其藥材正確與品質穩定是使用上的最大疑點，為開發臺灣自有丹參生藥資源，利用組織培養技術大量繁殖組培苗實為當務之急。

以往組織培養大量繁殖過程中，常因培養基所含成份或培養容器內高相對濕度，致使組培苗產生玻璃質化(hyperhydricity, vitrification) (陳等 1998；Paques 1991；Tsay 1998)。然而，藉由透氣性容器封口以降低瓶內相對濕度，不僅有效抑制康乃馨(*Dianthus caryophyllus*)組培苗之玻璃質化(陳等 1998)，亦能夠提升高氏柴胡(*Bupleurum kaoi*)組培苗之出瓶成活率(陳等 2004b)。本研究為建立可行且實用之丹參組培苗生產體系，首先建立丹參無菌組培苗培養，而後針對影響微體大量繁殖之植物生長調節劑進行探討，同時改善大量繁殖過程中組培苗所產生之玻璃質化問題，以及提高組培苗之出瓶移植成活率，若能夠配合將來之優良農業規範(good agricultural practice, GAP)生產制度，期能有利於臺灣中草藥產業原物料品質的提昇。

材料與方法

丹參(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)植株由中國醫藥大學中藥資源學系陳忠川教授提供，栽培於行政院農委會農業試驗所生長箱。本研究使用之基本培養基含有 3%蔗糖、0.9% Difco Bacto-agar、全量 MS (Murashige & Skoog 1962)無機鹽類及維生素。培養基於加入凝膠物質前先以 0.1~1 N NaOH 或 HCl 將 pH 值調至 5.7±0.1，以 121℃、15 lb/in^2 (1.05 kg/㎝^{2})進行高溫高壓滅菌 15 分鐘後冷卻備用。培植體接種後置於 25±1℃恆溫、照光(約 38 umol/m^2/s) 14 小時環境下培養。無菌組培苗之建立與增殖試驗是以玻璃試管(20 mm x 120 mm，Pyrex，日本)進行，而封口置換處理試驗則利用 125 ml 三角瓶(Pyrex，日本)作為培養容器。

丹參無菌組培苗之建立

切取帶有腋芽之丹參莖節(長約 0.7 cm)作為培植體，以 0.5%次氯酸鈉溶液合併超音波震盪器消毒 10 分鐘，經無菌水洗滌 3-4 次後，培植體置於含有 1 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA 之 MS 基本培養基中培養。無菌丹參苗繼代培養於含有 0.25 mg/l kinetin 之 MS 基本培養基進行增殖作為後續試驗之材料。

BA 與 kinetin 對組培苗增殖與生長之影響

將長約 1.5 cm 的丹參組培苗除去部分葉片後，培養於添加 BA (0.05 與 0.1 mg/l)或 kinetin (0.25 與 0.5 mg/l)之 MS 基本培養基，培養 6 週後調查苗高、苗數及玻璃質化苗數。

Kinetin 對組培苗增殖與生長之影響

同上所述之丹參組培苗於含有 0、0.05、0.1 及 0.2 mg/l kinetin 之半量 MS 無基鹽類之基本培養基中培養，培養 6 週後調查苗高、苗數及玻璃質化苗數。

培養容器覆蓋物置換處理對組培苗增殖與生長之影響

同上所述之丹參組培苗培養於含有 0.2 mg/l kinetin 之 1/2MS 基本培養基，培養容器分別以透氣性較低之鋁箔紙(aluminum foil, AF)雙層或以透氣性較高之藥包紙(dispense paper, DP) [9.5 x 9.5 x 0.046

cm，正隆，臺灣]三層作為封口，兩處理間透氣率差異依據賴等(1999)試驗結果顯示，每小時氣體交換率(changes/h)分別為 0.27 與 0.92，顯示兩處理透氣率存在相當大的差異。置換處理包括全程 6 週均以鋁箔紙(AF6)或藥包紙(DP6)作為封口，以及先利用鋁箔紙封口培養 2 或 4 週後，將鋁箔紙置換成藥包紙封口繼續分別培養 4 及 2 週，處理代號分別以 AF2+DP4 與 AF4+DP2 表示。培養 6 週後調查瓶苗高度、苗數及玻璃質化苗數。

上述各試驗所調查之苗數係指苗長大於 1 cm 之組培苗，玻璃質化苗則是以葉片外觀呈水浸狀為依據。增殖試驗採 4 重複，每重複培養 10 株組培苗；封口置換處理試驗則是 4 重複，每重複培養 9 株組培苗；瓶苗高度以 4 重複，每重複調查 15 株組培苗。試驗所得資料經 SAS 8.02 (SAS Institute Inc. 2001)套裝統計分析軟體進行 ANOVA 變方分析，若處理間差異顯著，則利用最小顯著差異法(Least significant difference test, LSD test)比較各處理平均值間之差異。

結　果

無菌丹參組培苗之建立

丹參原植物(圖 1A)之莖節培養於含有 1 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA 之 MS 基本培養基中，經 8 週後可產生大量芽體(圖 1B)。將長約 1.5 cm 之無菌苗繼代培養於含有 0.25 mg/l kinetin 之 MS 基本培養基，作為丹參組培苗增殖試驗之用。

BA 與 kinetin 對丹參組培苗增殖之影響

添加不同濃度 BA 或 kinetin 之 MS 基本培養基處理對組培苗增殖之結果如表 1 與圖 1C 所示，以 0.25 mg/l kinetin 處理下每個培植體可獲得 6.5 苗的增殖效果最佳，其次為 0.5 mg/l kinetin 處理時每個培植體可獲得 5.8 苗，而 0.05 與 0.1 mg/l BA 處理之效果較差，每個培植體分別可獲得 5 及 4.3 苗。若以苗長大於 2 cm 之芽體數而言，仍以 0.25 mg/l kinetin 處理獲得 2.5 苗之結果最佳。然而觀察本試驗所有處理所得之組培苗均呈現不同程度之水浸狀葉片，亦即在此培養條件下，丹參組培苗有玻璃質化之現象。

Kinetin 對丹參組培苗增殖之影響

為改善上述試驗組培苗之玻璃質化，除降低培養基之鹽類濃度外，亦同時將 kinetin 濃度降低，期能達到抑制玻璃質化苗形成之效果。結果如表 2 與圖 1D 所示，在測試之三種濃度中，以 0.2 mg/l kinetin 處理於培養 6 週後，每個培植體分別可產生 3 株正常苗及 2.6 株玻璃質化苗表現最佳，但玻璃質化苗比例仍高達 46.6%；0.05 與 0.1 mg/l kinetin 處理之正常苗數分別為 2.2 與 2.3 苗，而不含 kinetin 之對照組效果最差，僅形成 1.7 正常苗，而 0、0.05 與 0.1 mg/l kinetin 三處理之玻璃質化苗比率則分別為 45.4、52.4 與 51.1%。此試驗結果顯示，降低培養基之鹽類濃度雖可部份改善玻璃質化，但 kinetin 濃度並非影響玻璃質化苗形成之因子，因此採用下列方式以減少玻璃質化苗之產生。

培養容器封口置換處理對丹參組培苗玻璃質化之影響

本試驗主要利用透氣較高之藥包紙替代一般培養所使用之密閉性較高的鋁箔紙作為培養容器封口，藉由封口物提高培養容器之通氣性以降低瓶內之相對濕度，期能降低玻璃質化苗之形成率。試驗結果如表 3 及圖 2 所示，瓶苗增殖總數以全程鋁箔紙封口培養(AF6)之 5.2 苗與 AF2+DP4 處理之 4.8 苗最佳，其次是形成 4.0 苗之 AF4+DP2 處理，但上述三處理間並無顯著差異存在；而全程以藥包紙封口培養之 DP6 處理的瓶苗增殖效率最差，僅獲得 3.4 苗。但就玻璃質化苗形成之比例而言，AF6 處理仍有 64%之玻璃質化苗產生，其餘配合藥包紙封口培養不同時間之 AF4+DP2、AF2+DP4 與 DP6 三

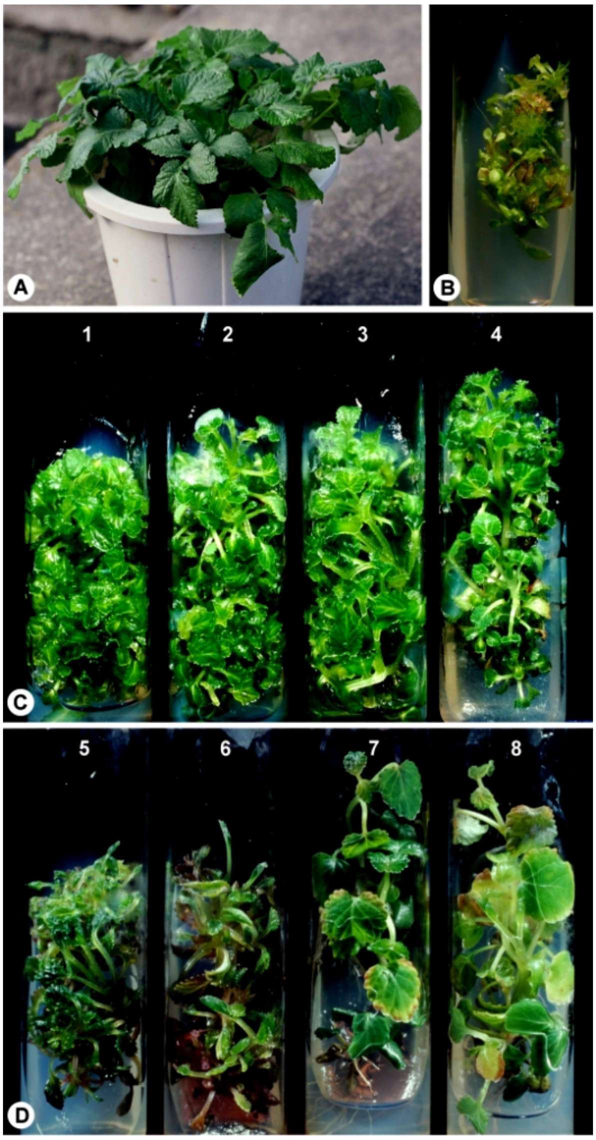

圖 1. 丹參培植體來源、無菌組培苗建立與組培苗增殖之情形。栽培於農業試驗所植物生長箱之丹參原植株(A)；莖節培養於含有 1 mg/l BA 及 0.1 mg/l NAA 之基本培養基，經培養 8 週後之生長情形(B)；丹參組培苗培養於添加 BA (0.1 與 0.05 mg/l) (1, 2)及 kinetin (0.5 與 0.25 mg/l) (3, 4)之 MS 培養基(C)；以及添加 kinetin (0.2、0.1、0.05 與 0 mg/l) (5, 6, 7, 8)之 1/2 MS 培養基(D)經培養 6 週後之組培苗增殖情形。

Fig. 1. Explant source, aseptic shoot culture establishment and shoot proliferation of *in vitro Salvia miltiorrhiza* cultured for 6 weeks of culture. Growth of *S. miltiorrhiza* plant maintained at growth chamber in Agricultural Research Institute (ARI) (A); Adventitious buds derived from nodal segment on a full-strength MS basal medium supplemented with 1 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA for 8 weeks culturing (B); Multiple shoots were obtained on a full-strength MS basal medium containing 0.1, 0.05 mg/l BA (1, 2) and 0.5, 0.25 mg/l kinetin (3, 4) (C), and on a half-strength MS basal medium containing 0.2, 0.1, 0.05 and 0 mg/l kinetin (5, 6, 7, 8), respectively (D).

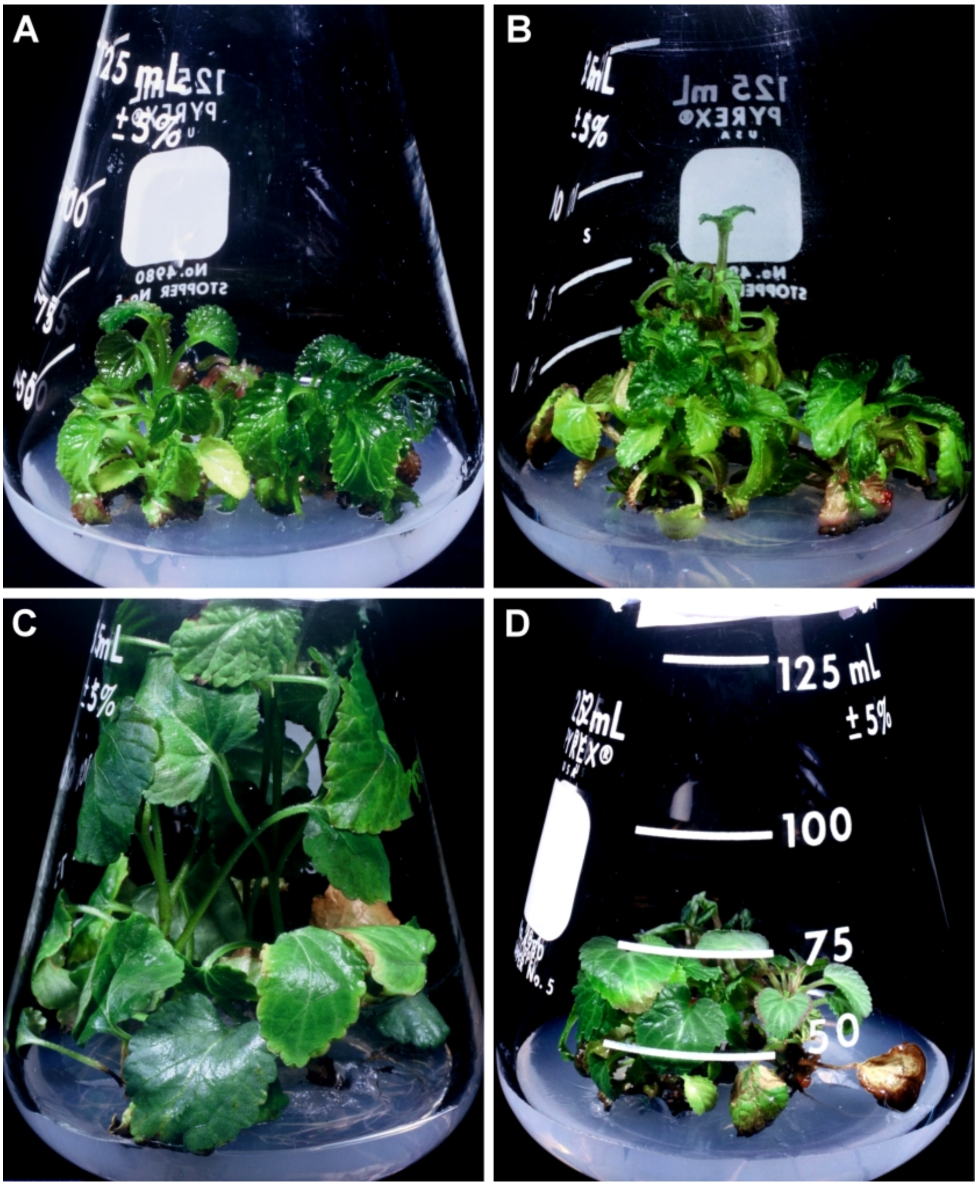

圖 2. 培養容器封口置換處理對丹參組培苗增殖與生長之影響。丹參組培苗培養於添加 0.2 mg/l kinetin 之 1/2 MS 基本培養基使用雙層鋁箔紙覆蓋培養 6 週(AF6) (A)；在使用雙層鋁箔紙覆蓋培養 4 週後，再以三層藥包紙覆蓋培養 2 週(AF4+DP2) (B)；以雙層鋁箔紙封口培養 2 週後，再以三層藥包紙置換培養 4 週(AF2+DP4) (C)；以三層藥包紙覆蓋培養 6 週(DP6) (D)。

Fig. 2. Influence of container closure on *in vitro* shoot proliferation and growth of *Salvia miltiorrhiza*. Multiple shoots grew on a half-strength MS basal medium containing 0.2 mg/l kinetin by using 2 layers aluminum foil as container closure for 6 weeks of culture (AF6) (A); Using 2 layers of aluminum foil as container closure for 4 and 2 weeks, then exchanging container closure with 3 layers of dispense paper for extending 2 and 4 weeks of culture, respectively (AF4+DP2, AF2+DP4) (B, C); Using 3 layers of dispense paper as container closure for 6 weeks of culture (DP6) (D).

表 1. 細胞分裂素對丹參組培苗增殖與生長之影響
Table 1. Influence of cytokinins on shoot proliferation and growth of *in vitro Salvia miltiorrhiza* [z]

Cytokinin (mg/l)		No. of shoots produced per explant [y]		
Kinetin	BA	Total shoots	Shoot length between 1 and 2 cm	Shoot length longer than 2 cm
0.25	0	6.5 ± 0.42 a	4.1 ± 0.34 a	2.4 ± 0.49 a
0.5	0	5.8 ± 0.61 ab	4.1 ± 0.69 a	1.7 ± 0.14 ab
0	0.05	5.0 ± 0.57 bc	3.6 ± 0.46 a	1.4 ± 0.27 bc
0	0.1	4.3 ± 0.44 c	3.3 ± 0.17 a	1.0 ± 0.27 c

[z] *In vitro* shoots about 1.5 cm in length were cultured on full-strength MS basal medium containing various concentration of kinetin and BA.
[y] Forty explants were tested per treatment and the data was collected after 6 weeks of culture and shoots length smaller than 1 cm were not scored. Means within a column followed by the same letter/s are not significantly different from each other at the 5% level by LSD test.

表 2. Kinetin 對丹參組培苗增殖與生長之影響
Table 2. Influence of kinetin concentration on shoot proliferation and growth of *in vitro Salvia miltiorrhiza* [z]

Kinetin (mg/l)	No. of shoots produced per explant [y]			Percentage of hyperhydric shoots (%)
	Total shoots	Normal shoots	Hyperhydric shoots	
0	3.1 ± 0.27 c	1.7 ± 0.18 c	1.4 ± 0.16 b	45.4 ± 3.28 b
0.05	4.7 ± 0.30 b	2.2 ± 0.14 b	2.5 ± 0.17 a	52.4 ± 1.01 a
0.1	4.6 ± 0.25 b	2.2 ± 0.13 b	2.4 ± 0.13 a	51.1 ± 0.72 a
0.2	5.6 ± 0.28 a	3.0 ± 0.19 a	2.6 ± 0.21 a	46.6 ± 2.64 b

[z] *In vitro* shoots about 1.5 cm in length were cultured on half-strength MS basal medium containing various concentrations of kinetin for 6 weeks of culture.
[y] Same as Table 1.

處理均無玻璃質化苗形成。若以苗長而言，則以 AF2+DP4 處理達 4.78 cm 之生長最佳，其餘 AF6、AF4+DP2 與 DP6 等三個處理之苗長介於 1.83-2.12 cm 之間。

討　論

前人研究指出，莖節與側芽是組培大量繁殖之最佳培植體，例如長春花(*Catharanthus roseus*) (Alen & Jain 1997)、臺灣龍膽(*Gentiana davidii* var. *formosana*) (Chueh *et al*. 2000)、高氏柴胡(*Bupleurum koai*) (陳等 2004c) 與海芙蓉(*Limonium wrightii*) (Huang *et al*. 2000)等重要藥用植物。本研究利用取得較為容易之丹參腋芽莖節作為培殖體，培養於添加 1 mg/l BA 配合 0.1 mg/l NAA 之 MS 基本培養基，可直接誘導腋芽生長並增殖大量芽體，建立丹參無菌組培苗初代培養(圖 1B)。

種苗大量繁殖是組織培養商業生產上極為重要的一環，常利用高濃度細胞分裂素(cytokinins)或液態培養方式，以求達到芽體大量增殖與加速生長之目的，而為防止污染及水分喪失，培養容器則以低透氣性封口材質(如鋁箔紙)加以密封，在此高 cytokinins 濃度與高相對溼度的生長條件下，組培苗葉片常可觀察到如水浸狀的玻璃質化徵狀，此玻璃質化苗在出瓶移植後之成活率極低，是組織培養大量繁殖上亟待解決的問題(陳等 2004a；George 1993；Paques 1991；Tsay 1998)。Tsay (1998)於康乃馨(*Dianthus caryophyllus*)莖頂培養時，發現使用 BA 易使芽體產生玻璃質化，且濃度愈高情形愈嚴重。

本研究結果顯示，添加 BA (0.05 與 0.1 mg/l)或 kinetin (0.25 與 0.5 mg/l)之 MS 基本培養基雖可大量繁殖丹參組培苗，然而全部組培苗均形成玻璃質化，其中又以 BA 處理較為嚴重，且苗長大於 1 cm 之芽數也較低，並不利於後續組培苗之增殖(表 2、圖 1C)；此外，組培苗培養於含有 0.2 mg/l kinetin 之 1/2MS 基本培養基雖可降低玻璃質化苗比率，但其繁殖率均較 BA (0.05 或 0.1 mg/l)與 kinetin (0.25 或 0.5 mg/l)處理為低，而本試驗之 0.2 mg/l kinetin 處理所得芽體總數與正常苗數則較其餘處理高(表 3、圖 1D)。綜合上述結果顯示，降低 MS 與 kinetin 濃度雖可部分抑制丹參玻璃質化組培苗形成，但仍有約 45-53%組培苗形成玻璃質化，顯示仍須利用其他方法以改善此一嚴重問題。

改善瓶內相對濕度可利用於瓶內馴化的操作，提高組培苗之出瓶成活率，減少組培苗商業生產損失，因此結合組織培養與環控技術而進行瓶內馴化是頗值得研究的課題，而如何控制玻璃質化且又不影響增殖效率則是另一研究重點(陳等 2001)。利用高透氣性培養容器封口以降低瓶內環境的相對濕度，不僅能有效抑制玻璃質化苗產生，更可增加玄參(*Scrophularia yoshimurae*) (Lai *et al*. 2005)與康乃馨(陳等 1998)組培苗品質。利用通氣處理可抑制滿天星(*Gypsophila paniculata*)玻璃質化組培苗發生，但瓶苗生長則同時受到抑制(Dillen & Buysens 1989)。顯然通氣處理有助於改善瓶苗之玻璃質化，但過度通氣則易對瓶苗生長造成負面的影響。此一瓶苗生長增殖受抑制之情形，可能與通氣處理改變瓶內環境，如 CO_2、O_2 與乙烯(ethylene)氣體組成及水分可利用性等重要因子，導致植體生長分化受阻有關(朱 1993；陳等 2001；Lai *et al*. 1998)。本研究也有相似結果指出，藉由透氣性較高的藥包紙作為培養容器封口，雖可完全抑制丹參組培苗玻璃質化，但如處理時間過長亦會造成組培苗增殖效率的降低(表 3)。因此利用藥包紙為培養容器封口，可有效改善瓶內高相對濕度以減少組培苗玻璃質化，如能配合適當處理時間更可兼顧組培苗之繁殖率與品質，尤其藥包紙之通氣量可藉由調整使用層數加以控制，應可提供其他易產生玻璃質化組培苗作物培養之參考。

綜合上述研究結果顯示，藉由莖節培養可建立無菌丹參組培苗初代培養，組培苗培養於含有 0.2 mg/l kinetin 之 1/2MS 基本培養基，並配合以藥包紙替代透氣性較差之鋁箔紙封口且培養適當時程，可維持相當繁殖率並提高優質丹參組培苗形成數。此外，有關丹參組培苗之發根與馴化相關生產體系建立的研究，將另為文述之。

表 3. 透氣性容器封口與其處理時間對丹參組培苗增殖與生長的影響
Table 3. Influences of ventilating container closure on shoot proliferation and growth of *in vitro Salvia miltiorrhiza* [z]

Treatment [y]	No. of shoots produced per explant [x]			Length of normal shoots [x]
	Total shoots	Normal (%)	Hyperhydric (%)	(cm)
AF6	5.2 ± 0.16 a	36 ± 1.0	64 ± 1.0	2.12 ± 0.08 b
AF4 + DP2	4.0 ± 0.29 ab	100 ± 0.0	0 ± 0.0	1.83 ± 0.03 c
AF2 + DP4	4.8 ± 0.21 a	100 ± 0.0	0 ± 0.0	4.78 ± 0.11 a
DP6	3.4 ± 0.03 c	100 ± 0.0	0 ± 0.0	2.05 ± 0.11 b

[z] *In vitro* shoots about 1.5 cm in length were cultured on half-strength MS basal medium supplemented with 0.2 mg/l kinetin for 6 weeks of culture.

[y] AF6 and DP6: Using 2 layers of aluminum foil (AF) or 3 layers of dispense paper (DP) as container closure for 6 weeks of culture, respectively; AF4＋DP2 and AF2＋DP4: Using 2 layers of aluminum foil as container closure for 4 and 2 weeks of culture, then exchanging container closure with 3 layers of dispense paper for the rest 2 and 4 weeks of culture, respectively.

[x] Thirty-six explants were tested for shoot production and length of sixty shoots were recorded per treatment and the data was collected after 6 weeks culturing. Means within a column followed by the same letter/s are not significantly different from each other at the 5% level by LSD test.

引用文獻

王康才、羅慶雲、陳紅霞。1998。丹參癒傷組織中次生代謝產物形成的研究。中國中藥雜誌 23: 592-594。

朱建鏞。1993。花卉微體繁殖之馴化。p. 83-96。園藝作物生產與發展研討會專集。國立中興大學。臺中。

宋經元、張蔭麟、祁建軍。1998。丹參的生物技術。天然產物研究與開發 11: 86-89。

那琦、謝文全、李一宏。1989。重輯嘉祐補註神農本草。私立中國醫藥學院中國藥學研究所。臺中。197 pp。

姜廣奮。1994。丹参組織和細胞培養研究概況。中草藥 25: 156-157。

張躍非、雷家谷、代其林。2003。丹參的組織培養及快速繁殖。植物生理學通訊 39: 139。

郭寶林、馮毓秀、趙楊景。2002。丹参種質資源研究進展。中國中藥雜誌 27: 492-495。

陳威臣、夏奇鈮、葉茂生、蔡新聲。2004a。植物組織培養苗玻璃質化與低木質化作用關聯性之探討。科學農業 52: 90-96。

陳威臣、夏奇鈮、葉茂生、蔡新聲。2004b。鹽類濃度、蔗糖、生長素及培養容器瓶口覆蓋物對高氏柴胡組培苗發根與馴化之影響。中華農業研究 53:249-260。

陳威臣、葉茂生、蔡新聲。2001。瓶內馴化處理對組織培養苗生長之影響。科學農業 49: 276-280。

陳威臣、葉茂生、蔡新聲。2004c。臺灣原生藥用植物-高氏柴胡腋芽培養之大量繁殖研究。中華農業研究 53: 27-38。

陳威臣、蕭翌柱、賴建洲、蔡新聲。1998。培養基組成與培養容器覆蓋物對康乃馨組織培養苗玻璃質化與發根的影響。中華農業研究 47: 364-376。

陳堅、凌昌全。1999。丹參與肝癌防治。中草藥 30: 226-228。

蔡新聲。1999。藥用植物之組織培養技術。p.113-124。藥用植物之開發與利用研討會論文集 (林俊義、盧煌勝、劉新裕、陳忠川、張成國 編)。台灣省農業試驗所。台中。

賴建洲、楊智凱、蔡新聲、陳威臣。1999。組織培養瓶不同封口材質透氣率之研究。p. 185-186。農業機械論文發表會摘要集。中華農業機械學會。臺北。。

Alen, K. H. and S. M. Jain. 1997. *In vitro* multiplication of *Catharanthus roseus*. Acta Hortic. 447: 167-169.

Chueh, F. S., C. C. Chen, A. P. Sagare, and H. S. Tsay. 2000. Quantitative determination of secoiridoid glucosides in *in vitro* propagated plants of *Gentiana davidii* var. *formosana* by high performance liquid chromatography. Planta Med. 66: 1-4.

Dillen, W. and S. Buysens. 1989. A simple technique to overcome vitrification in *Gypsophila paniculata* L.. Plant Cell Tissue Organ Cult. 19: 181-188.

George, E. F. 1993. Plant propagation by tissue culture, Part 1. The technology. England: Exegetics Ltd. 574 pp.

Hu, Z. B., D. Liu, and A. W. Alfermann. 1999. Genetic transformation of *Salvia miltiorrhiza*. p.249-260. *in*: Biotechnology in Agriculture and Forestry 45, Transgenetic Medical Plants (Bajaj, Y. P. S. ed.). Springer-Verlag, Berlin.

Huang, C. L., M. T. Hsieh, W. C. Hsieh, A. P. Sagare, and H. S. Tsay. 2000. *In vitro* propagation of *Limonium wrightii* (Hance) Ktze. (Plumbaginaceae), an ethnomedicinal plant, from shoot-tip, leaf- and inflorescence-node explants. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 36(P): 220-224.

Lai, C. C., T. A. Yu, S. D. Yeh, and J. S. Yang. 1998. Enhancement of *in vitro* growth of papaya multishoots by aeration. Plant Cell Tissue Organ Cult. 53: 221-225.

Lai, C. C., H. M. Lin, S. M. Nalawade, W. Fang, and H. S. Tsay. 2005. Hyperhydricity in shoot culture of *Scrophularia yoshimurae* can be effectively reduced by ventilation of culture vessels. J. Plant Physiol. 162: 355-361.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Nalawade, S. M. and H. S. Tsay. 2004. *In vitro* propagation of some important Chinese medicinal plants and their sustainable usage. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 40(P): 143-154.

Nalawade, S. M., A. P. Sagare, C. Y. Lee, C. L. Kao, and H. S. Tsay. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. Bot. Bull. Acad. Sin. 44: 79-98.

Nishioka, I. 1988. Clonal multiplication of medicinal plant by tissue culture. Shoyakugaku Zasshi 42: 1-11. (in Japanese with English Abstract)

Paques, M. 1991. Vitrification and micropropagation: causes, remedies and prospects. Acta Hortic. 289: 283-290.

Park, S., J. S. Song, D. K. Lee, and C. H. Yang. 1999. Suppression of AP-1 activity by tanshinone and cancer cell growth inhibition. Bull. Korean Chem. Soc. 20: 925-928.

SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User's Guide. Version 8.2, vol 2. SAS Inst., Cary, NC, USA. 943 pp.

Tsay, H. S. 1998. Effects of medium composition at different precultures on vitrification of carnation (*Dianthus caryophyllus*) in *in vitro* shoot proliferation. Acta Hortic. 461: 243-249.

Influence of Cytokinin and Ventilating Container Closure on Shoot Proliferation and Hyperhydricity of *In Vitro Salvia miltiorriza* Culture[1]

Uei-Chern Chen[2], Yih-Juh Shiau[2], Hsin-Sheng Tsay[3] and Chi-Ni Hsia[4,5]

Summary

Chen, U. C., Y. J. Shiau, H. S. Tsay, and C. N. Hsia. 2005. Influence of cytokinin and ventilating container closure on shoot proliferation and hyperhydricity of *in vitro Salvia miltiorriza* culture. J. Taiwan Agric. Res. 54:93-102.

In vitro shoot multiplication of *Salvia miltiorriza* Bunge using nodal segment explants has been investigated in this study. Aseptic shoots were established on a full-strength MS medium containing 1 mg/l benzyladenine (BA) and 0.1 mg/l α-naphthaleneacetic acid (NAA) for shoot multiplication. In the cytokinin for shoot multiplication experiment, among the concentrations of BA (0.05, 0.1 mg/l) and kinetin (0.25, 0.5 mg/l) tested, the highest shoot multiplication (6.5 shoots per explant) was achieved in the medium containing 0.25 mg/l kinetin after 6 weeks of culture. Nevertheless, hyperhydric shoots were found for all cytokinin treatments. In order to improve the hyperhydricity disorder for *in vitro* shoot proliferation of *S. mitrorriza*, a medium with half-strength MS basal salts and lower concentration of kinetin was used for subsequent experiment. The highest normal shoots (3.0 per explant) were obtained from the 0.25 mg/l kinetin treatment along with a 46.6% hyperhydricity. Using the dispense paper instead of aluminum foil as container closure improved ventilation and reduced hyperhydricity in shoot cultures. Both the highest normal shoots (4.8 per explant) and the longest shoot length (4.78 cm) were obtained in the treatment using aluminum foil as container closure for the first 2 weeks of culture, then exchanging with dispense paper for the rest 4 weeks of culture. In conclusion, an *in vitro* shoot proliferation system for *S. miltiorriza* was established by culturing shoots in the medium containing half-strength MS basal salts and 0.2 mg/l kinetin. However, using ventilating dispense paper as container closure for certain culturing period was beneficial to overcome the hyperhydric disorder in shoot cultures.

Key words: *Salvia miltiorrhiza*, Medicinal herbs, Micropropagation, Hyperhydricity, Ventilating container closure.

---

1. Contribution No.2228 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: July 17, 2005.
2. Assistant Agronomist, Agronomy Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Professor, Graduate Institute of Biotechnology, Chaoyang University of Technology, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Associate Researcher, Agronomy Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author, e-mail: hsia@wufeng.tari.gov.tw；Fax: (04) 23302806.

台灣農業研究(J. Taiwan Agric. Res.) 54:103~112 (2005)

水稻直鏈性澱粉突變體快速篩選法 [1]

鄭統隆[2] 林素月[3] 曾東海[2] 王強生[2,4]

摘　要

鄭統隆、林素月、曾東海、王強生。2005。水稻直鏈性澱粉突變體快速篩選法。台灣農業研究 54:103-112。

本試驗使用台農 67 號(TNG67)經疊氮化鈉誘變所得的低(7%)、高(30%)直鏈性澱粉含量的突變體，及直鏈性澱粉含量非純系之突變體 SA0404 為材料，並以中直鏈性澱粉含量(20%)之誘變親台農 67 號為對照品種，建立單粒米及半粒米之直鏈性澱粉測定方法，此方法節省人力。利用此方法不但可加速將突變體 SA0404 純化為直鏈性澱粉純系，且可應用於一穗內各穀粒間直鏈性澱粉含量變化之探討。本研究也確立同一米粒之頂端與基部之直鏈性澱粉含量並無明顯差異，不含胚之頂端可以代替開發為半粒米測定之代表，並建立半粒米之播種程序，更有助於追蹤並加速突變體之純化與篩選，及作為直鏈性澱粉特性之世代追蹤及加速品系選拔純化之相關研究用。

關鍵詞：水稻、直鏈性澱粉、突變體。

前　言

人類栽培水稻以收穫稻米為主要目的，所以米質之特性常為決定品種優劣之主要因素之一。影響米質之因素很多，如直鏈性澱粉(amylose)含量之高低。直鏈性澱粉含量之高低對澱粉特性有很大之影響，已知直鏈性澱粉含量會影響稻米之烹煮、食味及加工等性質(Juliano *et al.* 1965；Sano 1984；Kunihiro *et al.* 1993)。高直鏈性澱粉造成飯粒之柔軟度、黏著度、色澤、光澤等食味性質之下降；在化學特性上，它會提高糊化溫度及加速米粒澱粉之老化(Juliano *et al.* 1965)，所以直鏈性澱粉含量常被用來作為米質之指標。米質之定義眾說紛云，蓋每個人對米質之要求不一致，不同之米質可滿足不同國人之需求，不同直鏈性澱粉所決定不同之米粒特性，可提供各式各樣之食品加工及工業利用。

Satoh & Omura (1981)以 MNU (N-methyl N-nitrosourea)誘變劑處理水稻 Kinmaze 品種，及以 EMS (ethylmethane sulphonate) 誘變劑處理 Sasanishiki 品種，獲得幾個直鏈性澱粉之突變種，包括高直鏈性澱粉、糯性(waxy)、直鏈性澱粉擴增(amylose extender)及糊狀(dull)等突變體。利用這些突變體研究發現：控制直鏈性澱粉含量之基因，除了主要受結合性澱粉合成酵素(granule-bound starch synthase; GBSSI)控制外(Ball *et al.* 1998)，仍受澱粉分支酵素(starch branching enzyme; SBE)及 *du* 基因之調控

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2229 號。接受日期：94 年 7 月 28 日。
2. 本所農藝組助理研究員、助理研究員、研究員。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。
3. 弘光科技大學食品營養系助理。臺灣 臺中縣 沙鹿鎮。
4. 通訊作者，電子郵件：cswang@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

(Mizuno *et al.* 1993；Yano *et al.* 1988；Sano 1985)。此外，穀粒充實期間之氣溫(Umemoto *et al.* 1995)及穀粒穗內著生位置之差異(Matsue ＆ Ogata 1999；Umemoto *et al.* 1994)，也會影響直鏈性澱粉含量。

農業試驗所農藝系分子遺傳研究室，利用疊氮化鈉誘變劑(NaN_3)誘變水稻台農 67 號所得突變庫中，篩選獲得不同直鏈性澱粉含量、米粒外觀及不同澱粉合成速率之突變品系(Wang *et al.* 2002)，是探討影響直鏈性澱粉含量與米質關係、及直鏈性澱粉合成之生理、遺傳與功能性基因等研究之最佳材料。所以針對突變庫之篩選、遺傳分析、特殊分離篩選、雜交後代篩選等工作，為必需著力進行的，然而直鏈性澱粉分析樣品數量相當龐大，極需開發簡便節省人力及有效之分析方法來進行篩選突變庫大量樣品。以往直鏈性澱粉之分析多參照 Juliano(1981)之方法測定，其方法以混合米為主，無法精確得知單一米粒之含量，對分析結果判讀容易產生偏差，對於分離族群個體之篩選及遺傳分析較為不利(Kumar ＆ Khush 1987)，且其所需使用的樣品量約 5 粒以上米粒之混合，較單粒米多。近年來國人亦有使用單粒米測定直鏈性澱粉之報告(廖 1998；許 1994)，但其測定並未與混合米測定作比較，為達到單粒米之測定值相同於混合米測定，測定程序適用於大量之樣品數，且該測定之單粒米能繁衍下一代，以達追蹤及加速世代純化之目的。本試驗將比較不同單粒米及半粒米之直鏈性澱粉測定方法，以符合混合米之標準及追蹤並加速突變體之純化與篩選，及建立半粒米繁殖程序，作為直鏈性澱粉特性之世代追蹤及加速品系選拔純化之相關研究用。

材料與方法

本試驗使用台農 67 號經疊氮化鈉誘變所建立之突變庫中，篩選得到已純化的低、高直鏈性澱粉含量之突變體 SA0419(7%)、SA0418(30%)(Wang *et al.* 2002)，及直鏈性澱粉含量非純系之突變體 SA0404 為材料，並以中直鏈性澱粉含量(20%)之誘變親台農 67 號為對照品種。

本試驗之材料均種植在台中縣霧峰鄉農業試驗所試驗農場。水稻種子播種於秧田，3 葉齡移植插秧於本田，行株距為 30×15 cm，單本植，一期作肥料用量 N：P_2O_5：K_2O 為 130：54：60 kg/ha，分基肥與三次追肥施用；二期作氮肥減少 10kg，追肥分二次施用。其他管理按水稻慣行栽培法為之。

收穫成熟期之穀粒烘乾至含水率為 14% 左右，以脫殼機(Satake THU358，日本)脫殼，並以 Kett 小型精米機精米，精米時間設定為 40 秒。試驗樣品分為混合米、單粒米及半粒米等不同處理，半粒米則以解剖刀將全粒糙米均分為頂端(distal)及含胚之基部(proximal)等兩部份。混合米則以粉碎機(佑崎牌，台灣)將 5 g 白米磨成粉末，篩選小於 60 mesh 之粉末，依 Juliano(1981)之方法測定米粒直鏈性澱粉含量。稱取 0.1 g 樣品，加入 2.5 ml 水及 2.5 ml 2N NaOH，在 40℃下作用 2 小時，並間歇振盪以充分混合。定量至 50 ml，取 0.5 ml 樣品，加入 4.5 ml 水、1N 0.1 ml 醋酸、0.2 ml 碘液，室溫下作用 30 分鐘後，以 Hitachi U-2000 型光電比色計測 620 nm 及 520 nm 之吸光值。用從白米純化的直鏈性澱粉作標準曲線，以計算直鏈性澱粉含量及 $O.D._{620}/O.D._{520}$ 比值。由以上方法可將直鏈性澱粉之測定分為澱粉膠化及碘液反應兩個步驟，單粒米之測定只在澱粉膠化方法之改變，其方法分為 3 種，方法 1：單粒米直接浸泡在 1 ml 1 N NaOH 溶液中，隔夜後震盪至完全膠化；方法 2：單粒米浸泡在 0.5 ml 水後，於 100℃水浴中煮 60 分鐘，再加入 0.5 ml 1 N NaOH，震盪至完全膠化；方法 3：單粒米先以研缽磨細，在 1 ml 1 N NaOH 溶液中作用 2 天。以上 3 種方法均定量至 10 ml，其後進行與混合米相同之碘液反應定量。半粒米之測定同單粒米分析之方法 3 進行。

含胚半粒糙米之播種分為種子消毒、播種及移植等 3 個步驟。種子之消毒以無菌水、75% 酒精、3% NaOCl 等液體依序消毒後，在無菌操作台將種子播入無菌洋菜膠培養基中，光照下發芽，當幼苗

發育至 10cm 左右，移植至含珍珠石及蛭石各一半的無菌盒內馴化，馴化溫度為 22.5℃。馴化完成後移植至含土壤之培養盆，其後則按水稻一般栽培方法管理。

試驗採用完全逢機設計(CRD)，3 重複。所得資料經變方分析後，若處理間差異顯著，則以 LSD(Fisher's Least Significant Difference test)測驗法比較處理間平均值之差異。

結　　果

單粒米的不同膠化處理，所測到之直鏈性澱粉含量及 $O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 比值會有差異(圖 1A 和 1B)。方法 1 及 2 的直鏈性澱粉含量及 $O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 比值均比混合米測值低，尤其台農 67 號及 SA0418 的方法 2 測值最低；無論低、中或高直鏈性澱粉之米粒，方法 3 的直鏈性澱粉含量及 $O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 比值的測值與混合米測值無明顯差異(圖 1A 和 1B)。

利用混合米測定方法，水稻疊氮化鈉突變體 SA0404 判定為高直鏈性澱粉(約 26.5%)的突變體。但利用單粒米測定時發現突變體 SA0404 仍未完全純化，單粒米之直鏈性澱粉含量明顯分為 20%及 28%兩個族群(圖 1C)。

由單粒米之測試結果，將 SA0404 的直鏈性澱粉含量為 20% 和 28% 兩族群分別各種植 1 個品系，定名為 SA0404.1 和 SA0404.2，以進行純化。在 SA0404.1 品系後代族群中，隨機測定 2 個品系(定名為 SA0404.1.1 及 SA0404.1.2)之一穗各單粒米的直鏈性澱粉含量，結果發現 SA0404.1.1 品系之直鏈性澱粉含量介於 15.4%~24.5%之間(圖 2A)，SA0404.1.2 品系則介於 14.0%~22.6%(圖 2B)之間。一穗各單粒米直鏈性澱粉含量之平均值常等於混合測試之結果(Webb *et al*. 1979)，雖然這兩個品系之平均值均約為 20%，以混合米測定法判定似為已純化之品系。單粒米測值則發現其中尚有 24.5%高直鏈性澱粉含量之後代(圖 2A)，另雖只有一粒高直鏈性澱粉之後代，但其直鏈性澱粉含量分佈之範圍也有 8%(14%~22.4%)之多，且一次枝梗穀粒之直鏈性澱粉含量高於二次枝梗(圖 2)。

進一步分析 28%高直鏈性澱粉 SA0404.2 品系之後代：SA0404.2.1 及 SA0404.2.2，其一穗各單粒米之平均值均屬於高直鏈性澱粉(27.4%及 25.1%)(圖 3)。但單粒米測值仍發現有 20%之後代，且兩品系之分離情形有差異，更意外的是，SA0404.2.1 品系中有一粒 9.9%近糯化之後代(圖 3A)。高直鏈性澱粉之分離，再經一代之篩選已得到純化之品系。

單粒米測定方法也可利用於半粒米之測定，且無論低、中或高直鏈性澱粉含量之米粒，在同一米粒之頂端與基部之直鏈性澱粉含量並無明顯差異(圖 4)。在半粒米播種方面，發現半粒米因為切割而呈受傷狀態，容易感染病原菌，種子及培養介質之消毒就顯得特別重要，若消毒不完全，將種子播種於土壤介質中，雖發芽初期植株可以生長良好(圖 5A)，但後期容易因病原菌侵入而死亡。若將種子發芽於無菌之洋菜膠介質上，幼苗可順利生長，待長至約 10 公分時(圖 5B)，可移植馴化 2 星期後種植於一般土壤中正常生長至成熟(圖 5C)。種子播種於透明洋菜膠上，同時也可觀察根部發育之變異(圖 5A)，並發現具有紫色根之突變體(圖 5B)。

討　　論

支鏈性澱粉及直鏈性澱粉加碘液後，分別在 520 nm 及 620 nm 有最大吸光值，所以劉(1988)建議 $O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 值也可作為澱粉膠化程度及直鏈性澱粉含量測定之參考。當澱粉膠體溶出較多直鏈性澱粉時，$O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 值會較高，洪(2003)也認為直鏈性澱粉較高者，$O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 值則較高。本試驗方法 2 之直鏈性澱粉測值及 $O.D._{620}$ / $O.D._{520}$ 值均最低(圖 1A 和圖 1B)，顯然膠化不完全會影響

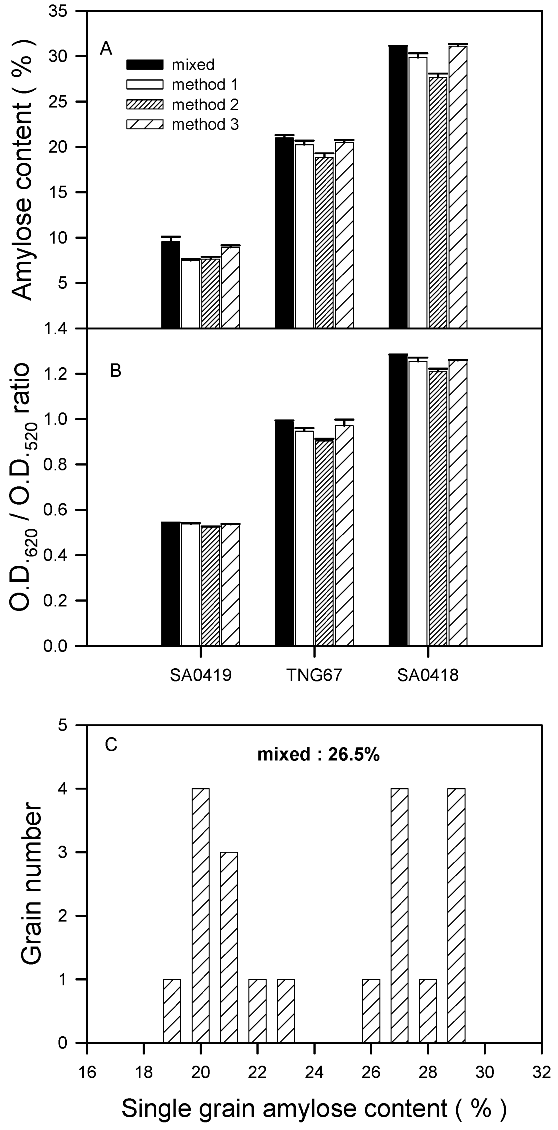

圖 1. 水稻混合米(mixed)及單粒米(single grain)直鏈性澱粉含量(A 和 C)和 O.D.$_{620}$ / O.D.$_{520}$ 比值(B)之測定方法比較。SA0419 突變體(7%)、台農 67 號(20%)和 SA0418 突變體(30%)，及 SA0404 突變體(C)分別代表低、中、高直鏈性澱粉米粒及直鏈性澱粉含量待純化之品系。SA0404 突變體以單粒米直鏈性澱粉含量之分布表示，其混合米之直鏈性澱粉含量(mixed)為 26.5%。混合米及單粒米之 3 種分析方法詳述於材料方法。

Fig. 1. Differences of amylose content (A and C)and O.D.$_{620}$ / O.D.$_{520}$ ratio (B) between mixed rice grains and single grain in rice mutant SA0419 (7%), TNG67 (20%), SA0418 (30%) and mutant SA0404 (C) with low、middle、high and non-purified amylose content, respectively. The representation of mutant SA0404 is amylose distribution of single grain, and the amylose content of mutant SA0404 detected by mixed is 26.5%. The methods for amylose analysis in mixed and single-grain are described in “Material and Method”.

直鏈性澱粉之測值。而方法 3 的測定方法最為簡便，將單粒白米粉末在 1N NaOH 下作用，期間並無任何處理，減少人力之耗費，廖(1998)和許(1994)之單粒米測定則將白米粉末在 100℃水浴中煮 10 分鐘，然後置於室溫冷卻 30 分鐘，其膠化過程需人力之參與。方法 1 及方法 2 必須利用震盪器震盪至完全膠化，每一樣品震盪時間不定，若震盪不完全，則直鏈性澱粉測值會偏低，對於大量樣品需投入相當多人力。比較圖 1 及圖 4 單粒米直鏈性澱粉含量之測值，其差異相當小，所以方法 3 之再現性很高，應足以取代混合米之分析法。

單粒米測值可以得知每一粒米之直鏈性澱粉含量，對於雜交後代和突變庫之篩選及遺傳分析等試驗，有關直鏈性澱粉分離品系之變異分析及純化監測會有幫助。單粒米之直鏈性澱粉測試分法不但可檢測穗內之變異(圖 2 及圖 3)，檢查突變庫或雜交後代之純化情形，及其分離情形、分布現象，更可以做為直鏈性澱粉遺傳分析之工具。以往有關直鏈性澱粉之分析均使用混合米之方式檢測，探討直鏈性澱粉遺傳時，必須以次一代測值作為上一代之推估值，往往會產生偏差(Kumar ＆ Khush 1987)，利用本研究之單粒米測試方法將可減少其偏差，並獲得當代之結果，加速突變體 SA0404 朝預定方向

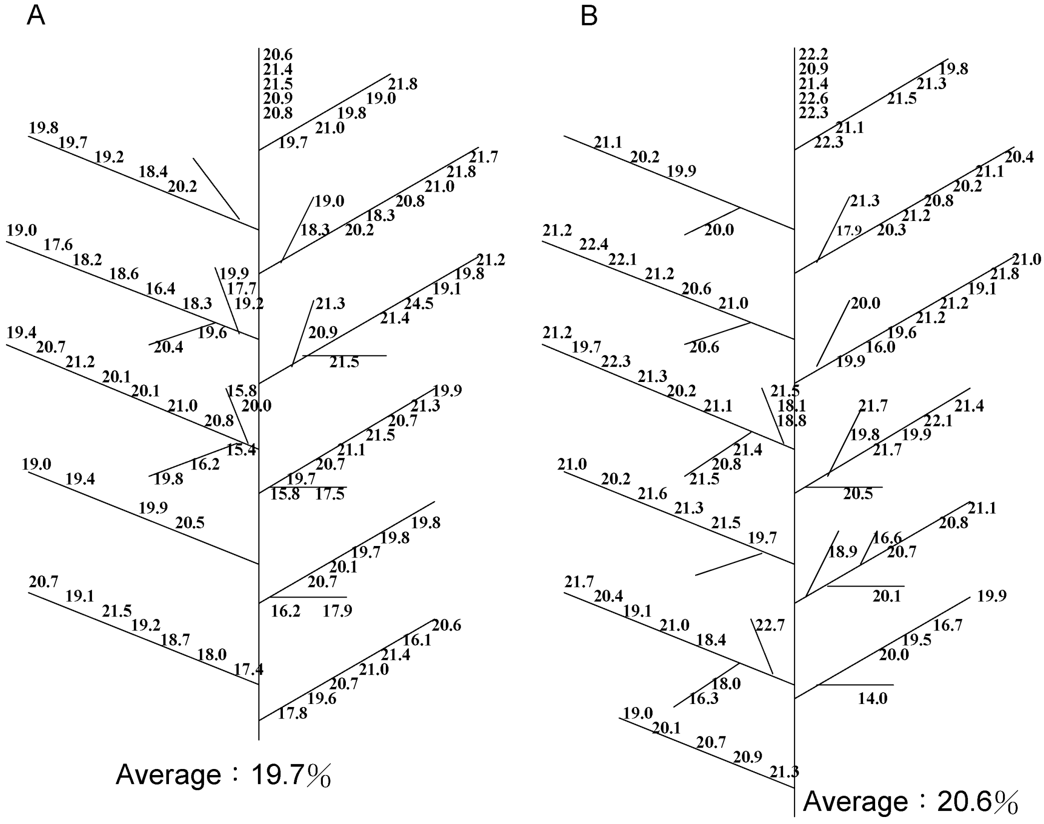

圖 2. 水稻突變體 SA0404.1（20%直鏈性澱粉）後代之 2 品系：SA0404.1.1（A）和 SA0401.1.2 (B），其一穗內各結實米粒利用單粒米分析方法所測得之直鏈性澱粉含量分布圖。

Fig. 2. Distribution of grain amylose content measured by single-grain method for each grain on a panicle of mutants line SA0401.1.1 (A) and SA0401.1.2 (B) descended from SA0404.1 (20％ amylose).

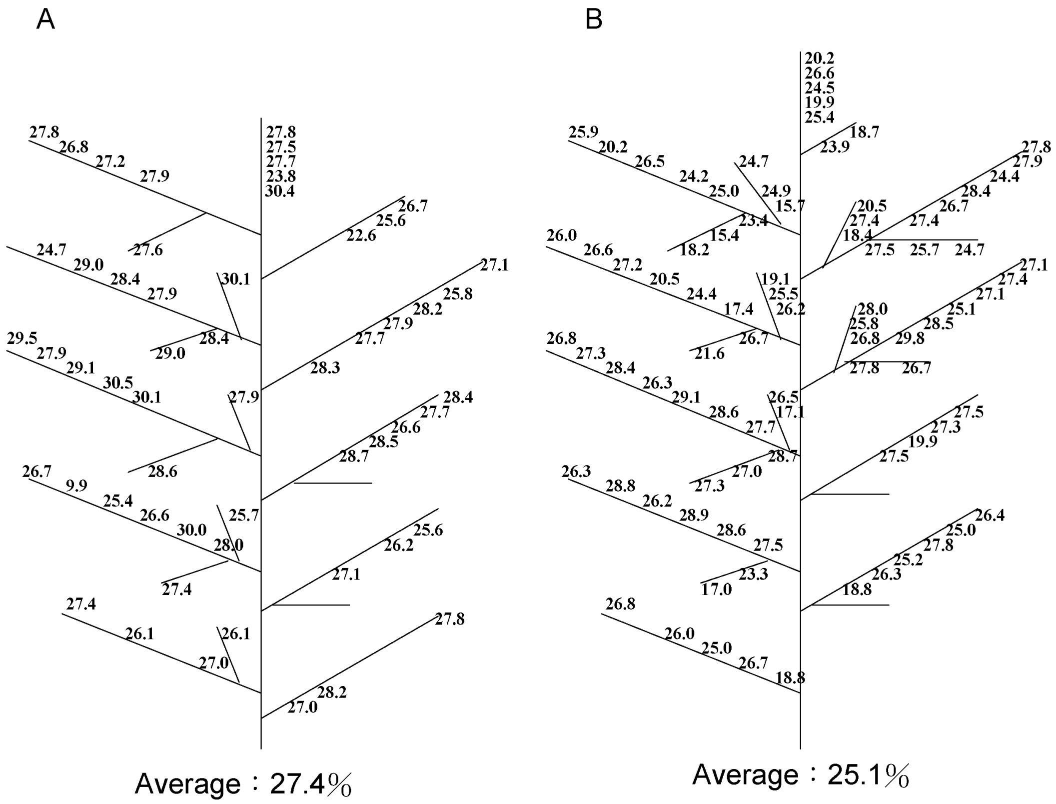

圖 3. 水稻突變體 SA0404.2（28%直鏈性澱粉）後代之 2 品系：SA0404.2.1（A）和 SA0404.2.2 (B)，其一穗內各結實米粒利用單粒米分析方法所測得之直鏈性澱粉含量分布圖。

Fig. 3. Distribution of grain amylose content measured by single-grain method for each grain on a panicle of mutant line SA0401.2.1 (A) and SA0401.2.2 (B) descended from SA0404.2 (28% amylose).

純化。而水稻一穗內各穀粒之直鏈性澱粉含量的變異，有可能來自穗內結構之差異(Matsue & Ogata 1999)，造成一次枝梗穀粒之直鏈性澱粉含量高於二次枝梗穀粒(Umemoto *et al*. 1994)；另也可能來自遺傳物質之差異，有趣的是，突變體 SA0404 有相當多為 14%~16%之後代(圖 2)，可能具有優良米質之潛力，值得進一步純化追蹤

單粒米測定法雖可測到單粒米之直鏈性澱粉含量，但該單粒米已無法以正常方式進行繁殖，所以用單粒米之頂端部位做為直鏈性澱粉之測定，基部仍可以進行繁衍。因此半粒米測定之方法必須建立，且單粒米頂端及基部二者之直鏈性澱粉含量是否有差異，也必須釐清。由試驗之結果顯示，不含胚之頂端可以代替開發為半粒米測定之代表；本試驗亦已建立半粒米之直鏈性澱粉測定方法及播種程序(圖 4 及圖 5)，將更有助於直鏈性澱粉突變體之純化速度。

總而言之，欲進行水稻米粒之直鏈性澱粉含量的穗內變異、突變庫及雜交後代之純化、異常分離及遺傳分析等試驗，單米粒測定為最佳之分析方法，而本研究提出節省人力且有效之方法，可應用於大量樣品之試驗。而半粒米之直鏈性澱粉測定方法及播種程序之建立，更有助於以上試驗之進行。

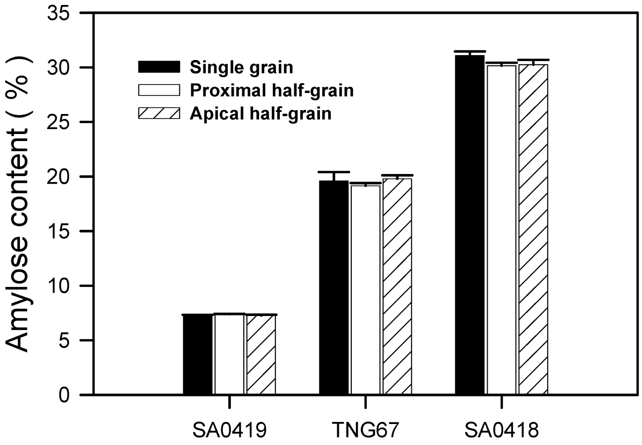

圖 4. 水稻單粒米(single grain)及基部(proximal)和頂端(distal)半粒米直鏈性澱粉含量測定之比較。突變體 SA0419(7%)、台農 67 號(20%)和突變體 SA0418(30%)分別代表低、中、高直鏈性澱粉米粒。

Fig. 4. Comparison of amylose content in single grain, proximal and distal half of rice grain in rice mutant SA0419 (7%), TNG67 (20%) and SA0418 (30%) with low, middle and high amylose content, respectively.

引用文獻

洪梅珠。2003。米飯食味品質與澱粉特性間相關之研究(二)。台中區農業改良場研究彙報 79：41-50。

許愛娜。1994。稻米品質理化性質之研究。農藝學系博士論文。國立中興大學。台中市。193 pp。

劉慧瑛、林禮輝、宋勳、洪梅珠。1988。不同稻米品種之食用與化學性質之關係。p.76-90。稻米品質研討會專集。台中區農業改良場編印。彰化。

廖久薰。1998。水稻品種 Pokhareli 直鏈性澱粉含量之遺傳研究。農藝學系碩士論文。國立中興大學。台中市。52 pp。

Ball, S. G., M. H. B. J. van der Wal, and R. G. F. Visser. 1998. Progress in understanding the biosynthesis of amylose. Trends Plant Sci. 3(12): 462-467.

Juliano, B. O., C. M. Perez, A. B. Blakeney, T. Castillo, N. Kongseree, B. Laignelet, E. T. Lapis, V. V. S. Murty, C. M. Paule, and B. D. Webb. 1981. International cooperative testing on the amylose content of milled rice. Stärke 33:157-162.

Juliano, B. O., L. U. Onate, and A. M. del Mundo. 1965. Relation of starch composition, protein content, and gelatinization temperature to cooking and eating qualities of milled rice. Food Technol. 19:1006-1011.

Kumar, I. and G. S. Khush. 1987. Genetic analysis of different amylose levels in rice. Crop Sci. 27:1167-1172.

Kunihiro, Y., Y. Ebe, N. Shinbashi, H. Kikuchi, H. Tanno, and K. Sugawara. 1993. A new paddy rice variety with good eating due to low amylose content developed by anther culture breeding. Jpn. J. Breed. 43:155-163.

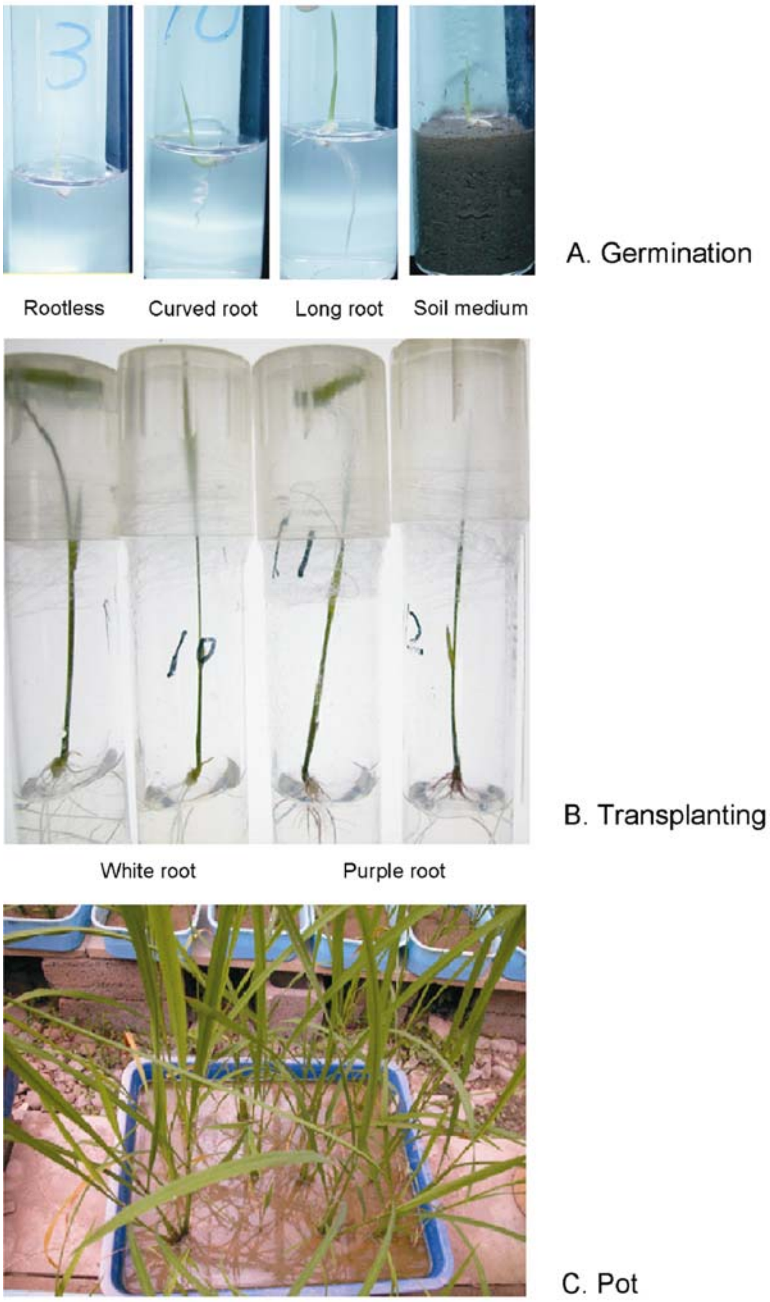

圖 5. 水稻含胚之半粒米的播種育苗流程。流程分為發芽初期(A)、移植期(B)及盆栽期(C)，發芽之介質可分為無菌洋菜膠或消毒之土壤，盆栽之介質則為一般水田壤土。

Fig. 5. The three steps for growing embryo-containing half rice grain: (A)germination in culture tube, (B)transplanting, and (C) pot cultivation. The medium used for germination step was sterilized agar or sterilized soil then the seedlings were transplanted to the pot tilled with paddy soil.

Matuse, Y. and T. Ogata. 1999. Influences of environment conditions on the amylose content of grain at different positions in a rice panicle. Jpn. J. Crop Sci. 68:495-500.

Mizuno, K., T. Kawasaki, H. Shimada, S. Satoh, E. Kobayashi, S. Okumura, Y. Arai, and T. Baba. 1993. Alteration of the structural properties of starch components by the lack of an isoform of starch branching enzyme in rice seeds. J. Biol. Chem. 268:19084-19091.

Sano, Y. 1985. Gene regulation at the *waxy* locus in rice. Gamma Field Symposia. 24:63-79.

Sano, Y. 1984. Differetial regulation of waxy gene expression in rice endosperm. Thero. Appl. Genet. 68:467-473.

Satoh, H. and T. Omura. 1981. New endosperm mutations induced by chemical mutagens in rice, *Oryza Sativa* L.. Jpn. J. Breed. 31:316-326.

Umemoto, T., Y. Nakamura, and N. Ishikura. 1995. Activity of starch synthase and amylose content in rice endosperm. Phytochemisty 40(6):1613-1616.

Umemoto, T., Y. Nakamura, and N. Ishikura. 1994. Effect of grain location on the panicle on activities involved in starch synthesis in rice endosperm. Phytochemistry 36:843-847.

Wang, C. S., T. H. Tseng, and C. Y. Lin. 2002. Rice biotech research at the Taiwan Agricultural Research Institute. APBN. 6:950-956.

Webb, B. D., C. N. Bollich, T. H. Johston, and W. O. McIlrath. 1979. Components of rice quality: their identification, methodology, and stage of application in United States breeding programs. p. 191-205. *in*: Proc. Workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality. Int. Rice Res. Inst., Los Banos, Philippines.

Yano, M., K. Okuno, H. Satoh, and T. Omura. 1988. Chromosomal location of genes conditioning low amylose content of endosperm starches in rice, *Oryza sativa* L..Theor. Appl. Genet. 76:183-189.

A Fast Method for Screening Amylose Mutant Rice[1]

Toong-Long Jeng[2], Su-Yue Lin[3], Tong-Hai Tseng[2] and Chang-Sheng Wang[2,4]

Summary

Jeng, T. L., S. Y. Lin, T. H. Tseng, and C. S. Wang. 2005. A fast method for screening amylose mutant rice. J. Taiwan Agric. Res. 54:103-112.

Rice grains with various amylose contents from low(7％)、high(30％)and varied (non-purified) amylose mutants, as well as from their original variety, TNG67(20％), were applied in this study. A method with less labor cost for amylose analysis on a single grain and half grain is developed in this study. The distribution of amylose in grains of all spikelets on a panicle could be detected and planted to the next generation for further analysis, and a non-purified segregating mutant, SA0404, was quickly screened and purified by this method. Besides, our investigations found that there is no difference in amylose content between distal and proximal part of a single rice grain. In this report, a fast and reliable method for analyzing amylose content and plant growing system on a single rice grain was developed that will benefit to improve rice quality related amylose content.

Key words: Rice, Amylose, Mutant.

---

1. Contribution No.2229 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: July 28, 2005.
2. Respectively, Assistant Agronomist, Assistant Agronomist and Senior Agronomist, Agronomy Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Research Assistant, Food Science and Nutrition Department, HungKuang University, Sha-Lu, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: cswang@wufeng.tari.gov.tw；Fax: (04)23302806.

台灣農業研究(J. Taiwan Agric. Res.) 54:113~122 (2005)

脆梅壓裂機之研究 [1]

黃禮棟[2,3] 周廷弘[2] 楊智凱[2]

摘　　要

黃禮棟、周廷弘、楊智凱。2005。脆梅壓裂機之研究。台灣農業研究 54:113-122。

為突破脆梅浸漬加工過程中費時費工之原料青梅壓裂作業瓶頸，以降低生產成本、嘉惠農民而研發脆梅壓裂機。一粒青梅於壓裂過程中之彈性係數可高達 12,340 kg/m，壓裂所需力量最高值達 50.9 kg，平均值亦有 39.6 kg，本機設計可一次壓裂 5 粒青梅，故壓裂機構必需產生極大力量。製作脆梅時先將六、七分熟之青梅混合粗鹽後放入滾筒中攪拌約 10 min，處理後果肉已稍微軟化且表皮上之纖毛已經脫去，此時再進行壓裂作業。本機經 5 次作業性能試驗結果顯示，脆梅壓裂機平均每小時作業量為 140 kg，約為人工作業量的 10 倍，而壓裂之果實外觀受到壓擠板間隙之影響頗大，為顧及脆梅之品質，建議於作業前先將梅子依粒徑大小分級，以求得較佳的壓裂效果並提升脆梅之品質。

關鍵詞：青梅、壓裂機、彈性係數。

前　　言

梅屬於薔薇科溫帶落葉喬木，台灣梅樹面積逾九千公頃，栽培於中央山脈東西兩側海拔 300～1,000 公尺的山坡地，梅子主要產地在南投縣、台中縣、台南縣、高雄縣及台東縣等縣境之山區。台灣梅果約二成以手工採收，八成以竹竿擊落採收，除少量自產加工、直銷或共同運銷進行鮮果交易外，其餘係由加工廠收購加工，然而受限於地理氣候環境、中國大陸廉價梅胚競銷及經第三國轉進口影響，台灣梅產業的傳統生產型式已經逐漸式微，收購價格亦逐年下跌。台東區農業改良場為配合當地交易市場需求，亦即加工脆梅之原料青梅果實必須依粒徑大小加以分級的作業需要，曾經開發梅子分級機，將青梅分成 20 mm 以下、20～23 mm、23～26 mm、26～29 mm 及 29 mm 以上等五級規格，分級精確度達到 85%以上，損傷率在 3%以下（曾得洲 2003）；農委會為穩定國產青梅的產銷，分別在產地及都會區辦理「台灣美梅季」系列活動及梅 DIY 教學，促進消費者自行加工醃製。為確保脆梅品質及外觀，製作脆梅前必須將梅果敲開一道不會使果粒破開的裂痕，使得澀味得以排出而糖份能充分被吸收且加工過程中顆粒不會縮小，此項作業以人工逐粒敲裂頗為繁瑣且費工費時，故研製青梅壓裂機以替代人工作業，可提升果農及小型工廠自行醃製之意願，而且因青梅原料不必鋪陳於桌面上敲擊，故可確保較佳衛生條件。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2230 號。接受日期：94 年 9 月 10 日。
2. 本所農業工程組副研究員、助理研究員與助理研究員。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：jerryh@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23325144。

材料與方法

為便於去除澀味及使醃漬糖汁易於滲入果肉內，脆梅醃漬前一般先以粗鹽及脆梅混合置於木製或不銹鋼製成之滾筒中搓揉攪拌，滾筒轉速約為 40 rpm，經過約 10 min 後，將已去除表皮上纖毛且已稍有軟化現象之梅子倒出，再以人工拿木槌逐粒敲裂，此項作業頗為費時費工，本所為解決此一作業瓶頸，故研發脆梅壓裂機以替代人工作業，降低生產成本，提升果農及小型工廠自行醃漬之意願。脆梅壓裂機雛型機之作用原理為：表皮經過粗鹽軟化處理後之脆梅由盛斗進入輸送帶中，當脆梅輸送至壓裂板下方時皮帶暫停運動，此時由曲軸滑塊機構組成之壓裂板元件往下運動，壓裂梅子，之後壓裂機構往上提升，而梅子則輸送至承接容器。因壓裂機構必須產生足夠的力量克服梅子阻力，故而量測梅子的壓裂力量是一重要項目。經以 Instron 4464 型材料試驗機測試，壓縮速度設定於該機最大值 100 mm/min 時之測試結果如表 1 所示，由資料顯示平均壓裂一粒青梅需要 39.6kg 的力量，單粒青梅的壓縮量與反應力之曲線關係如圖 1 所示。

本機機體長 95cm、寬 44cm、高 109cm，動力使用 0.5HP 之減速馬達，其外觀與壓裂作業之情形如圖 2 與圖 3 所示。

表 1. 青梅之壓裂力量試驗結果
Table 1. Cracking force of the tested mume fruits

Fruit No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Cracking force (kg)	46.0	34.1	39.0	35.6	39.9	46.7	41.7	44.0

Fruit No.	9	10	11	12	13	14	15	Average
Cracking force (kg)	40.7	29.2	50.9	35.5	31.0	35.0	44.9	39.6
Standard deviation of cracking force (kg)				6.20				

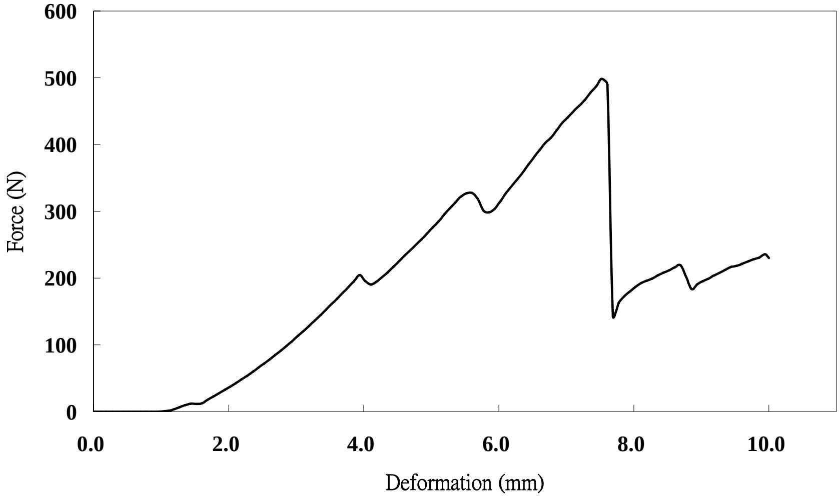

圖 1. 青梅之壓縮量與力量之關係曲線圖。
Fig. 1. The force-deformation curve of a mume fruit.

圖 2. 脆梅壓裂機。

Fig. 2. View of the mume cracking machine.

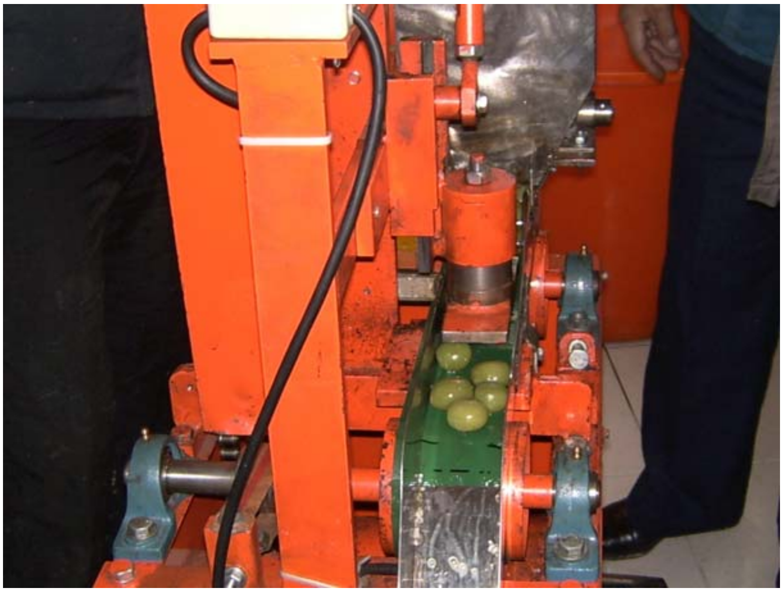

圖 3. 脆梅壓裂機之壓裂作業情形。

Fig. 3. The mume fruit cracking machine in operation.

結 果

於民國 93 年 4-5 月間，正值供製作脆梅之原料青梅採收期在新竹縣竹東鎮小型加工廠進行脆梅壓裂機試驗，青梅之果粒高度、長、短徑及重量之關係，列於表 2。加工前先依青梅粒徑大小加以分級後，再依照傳統之操作方式先將青梅混合粗鹽後放入轉速約為 40 rpm 之木製滾筒中(圖 4)攪拌約 10 min，因粗鹽及果粒間的磨擦作用，可以達到去除果皮上之纖毛及使青梅原料稍微軟化的效果，青梅及粗鹽攪拌處理後倒入有孔籃框內，使水份滴出再進行壓裂試驗。每次量取 6 kg 之青梅，紀錄其作業時間及顆粒完整率，試驗結果如表 3 所示，而經機械壓裂後之青梅則示於圖 5。本次作業雛型機之輸送皮帶寬度為 5 cm，壓裂機構每分鐘壓裂作業 40 次，每次壓裂 4~5 粒之青梅。

本次試驗脆梅壓裂機之完整顆粒率為 93.2%，平均作業能力為每小時 140.6 kg，約為人工作業能量的 8-10 倍，若欲提高作業能力，可從加寬盛盤出口、輸送皮帶與壓裂板，以及提高壓裂機構轉速等二方面著手。

表 2. 青梅粒徑與重量之資料
Table 2. Dimensions and weight of the sampled mume fruits

Fruit No.	Fruit size (mm)			Weight(g)
	Height	Long diameter	Short diameter	
1	31	29	26	13.0
2	29	28	26	11.6
3	30	29	26	12.8
4	31	30	27	13.3
5	28	28	25	11.0
6	26	27	25	9.5
7	30	29	27	13.4
8	31	29	27	13.0
9	31	32	28	14.7
10	30	30	26	13.3
11	27	27	25	10.6
12	29	29	25	11.7
13	28	28	25	10.6
14	29	27	25	10.7
15	28	27	24	10.5
16	29	29	25	12.1
17	27	26	24	10.0
18	28	28	25	10.4
19	25	25	22	7.9
20	25	27	24	9.5
21	26	27	24	9.6
22	26	27	24	9.2
23	25	26	23	8.7
24	27	28	26	11.2
25	26	28	25	10.4
26	30	28	25	11.2
27	27	27	24	9.7
28	29	29	26	12.1
29	27	28	25	10.4
30	28	26	24	10.1
Average	28.1	27.9	25.1	11.1
Standard deviation	1.90	1.44	1.27	1.60

圖 4. 青梅與粗鹽於木桶中攪拌以去除表皮細毛。

Fig. 4. Mume fruits and crude salt were mixed in a revolving wooden barrel to remove the cilia on the skin surface.

圖 5. 以脆梅壓裂機壓裂之梅子。

Fig. 5. The cracked mume fruits with rifts.

表 3. 脆梅壓裂機試驗結果
Table 3. Experimental results of the cracking machine

Run No.[z]	Cracking time (sec.)	Capacity (kg/h)	Whole fruit rate (%)
1	160	135	93.1
2	163	132	92.8
3	170	127	94.6
4	151	143	91.5
5	130	166	93.9
Average		140.6	93.2

[z] For each run, mume fruits of 6.0 kg were tested.

討　　論

脆梅壓裂機使用之曲軸滑塊機構之曲軸半徑 r 為 33 mm，連桿長度 L 為 96 mm，曲軸轉速為 43 rpm，故其角速度ω為 4.50 rad/sec；由圖 6 分析可得機構上滑塊之速度 v 及加速度 a 分別為(Faires 1959；Doughtie and James 1960)：

$$v = r\omega\left(\sin\theta + \frac{r\sin 2\theta}{2\sqrt{L^2 - r^2\sin^2\theta}}\right) \quad (1)$$

$$a = r\omega^2\left(\cos\theta + \frac{r\cos 2\theta}{\sqrt{L^2 - r^2\sin^2\theta}} + \frac{r^3\sin^2 2\theta}{4\left(L^2 - r^2\sin^2\theta\right)^{3/2}}\right) \quad (2)$$

其中：

v：滑塊速度 (mm/sec)
a：滑塊加速度 (mm/sec^2)
r：曲軸半徑(mm)
L：連桿長度(mm)
θ：曲軸角度(deg)
ω：曲軸角速度(rad/sec)

由表2知青梅之短徑一般為24 mm－28 mm 之間，進行壓裂時青梅一般以短徑方向受壓，假設欲壓裂之青梅短徑為24 mm，設定之壓縮量為10 mm，則當壓裂板到達開始壓縮青梅時曲軸之角度θ約為320^o(依圖6之標示且滑塊之下死點為0^o)，故開始壓縮青梅時之速度依公式(1)之結果為121 mm/sec，為 Instron 4464材料試驗機之最大速度1.67 mm/sec 之72.7倍。而如圖1所示於最大壓縮力量點7.5 mm 時，即距離曲軸滑塊機構頂點2.5 mm 處之速度亦有65 mm/sec。

一般假設農產品之壓縮模式可由彈性元件及黏滯性元件兩者並聯組成之 Kelvin Model(圖 7, Mohsenin 1970)或串聯組成之 Maxwell Model(圖 8, Mohsenin 1970)表示，由圖 1 可知 Instron 材料試驗機以 v=1.67 mm/sec 之定速度壓縮時，青梅之壓縮力與壓縮量約略分為三階段呈現近似直線之正比關係，於此壓縮試驗中，cv 值為一常數，而 kx 值為一線性函數，所以選擇以 Kelvin Model 解釋壓縮力與壓縮量近似正比之關係較為適當；雖然於開始壓縮時壓板與青梅之接觸面積較小，然而於壓縮中段

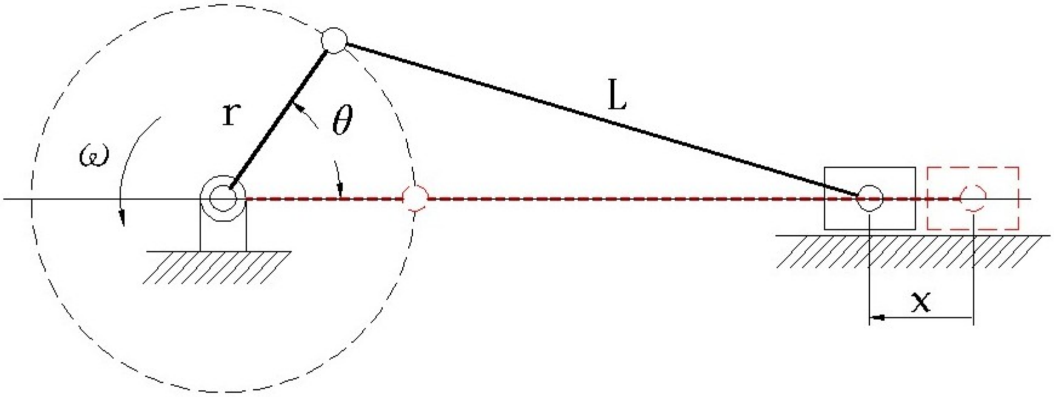

圖 6. 曲軸滑塊機構示意圖。

Fig. 6. Schematic diagram of a slider crank mechanism.

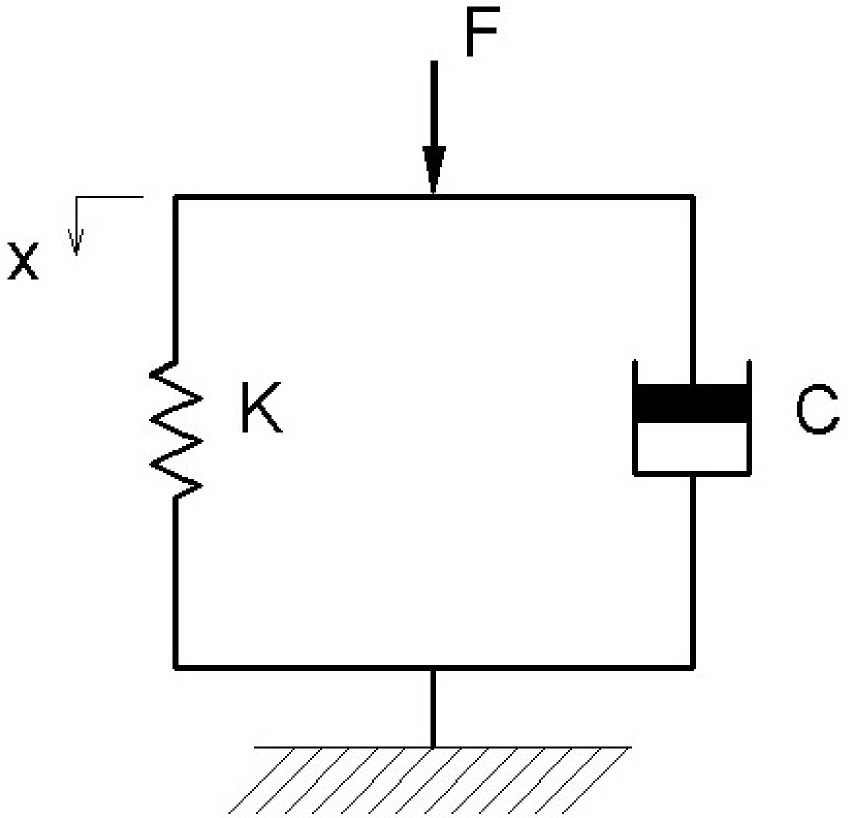

圖 7. Kelvin Model 示意圖 （Mohsenin 1970）。

Fig. 7. Schematic diagram of Kelvin Model (Mohsenin 1970).

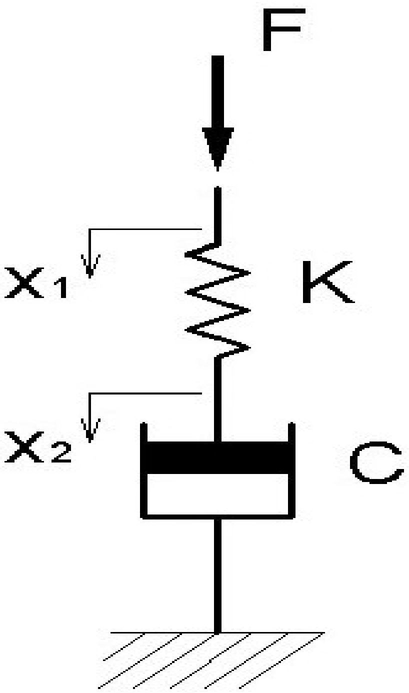

圖 8. Maxwell Model 示意圖（Mohsenin 1970）。
Fig. 8. Schematic diagram of Maxwell Model (Mohsenin 1970).

至後段部份，接觸面積較大，且變化量不大，若假設其為常數，應不致影響推論之正確性。而由公式（3）可知此曲軸滑塊機構壓裂一粒青梅實際需要之力量應高於由 Instron 4464 所測得之數據，此乃因黏滯性元件之阻抗力與壓縮速度成正比之故，而真正之數值仍需以具高速壓縮功能之設備加以確認。

Kelvin Model（Mohsenin 1970）之情形:

$$F = kx + c\frac{dx}{dt} = kx + c\dot{x} = kx + cv \qquad (3)$$

F：壓縮力量(kg)
k：彈簧之彈性係數(kg/m)
c：緩衝器之黏滯係數(kg-sec/m)
x：壓縮距離(m)
v：壓縮速度(m/sec)

Maxwell Model（Mohsenin 1970）之情形：

$$F = k(x_1 - x_2) = c\frac{dx_2}{dt} = cv \qquad (4)$$

F：壓縮力量(kg)

k：彈簧之彈性係數(kg/m)
c：緩衝器之黏滯係數(kg-sec/m)
x_1：總壓縮距離(m)
x_2：緩衝器壓縮距離(m)
v：緩衝器壓縮速度(m/sec)

而由圖 1 及表 4 得知，第一階段壓縮之近似直線部份之斜率估算彈性係數值為 9,680 kg/m，第二段與第三段壓縮曲線近似直線部份之彈性係數值分別為 10,720 kg/m 與 12,340 kg/m，皆高於第一階段者，推測其可能之原因如下：細胞壁所包圍之細胞液已受到壓縮後，要進一步壓縮需要較大之力量，直至破裂為止，至於為何各壓縮階段之間會產生降伏現象，尚待進一步探究。

脆梅為傳統加工產業，然而製造過程需要大量勞力，於我國加入世界貿易組織後，受到東南亞及中國大陸地區原料傾銷之影響，有漸漸式微之趨勢，為提升果農之收益，提高人民購買意願及養成食用本土生產之衛生食品，為一可行之方式，機械加工可降低食品與環境接觸之時間及昆蟲傳播細菌之機會，可大幅提高衛生條件並降低生產成本，提升產品競爭力。

表 4. 單粒青梅之壓縮力與變形量之關係
Table 4. Relationship between compression force and deformation of a mume fruit

Compression stage	Compressing force (kg)	Deformation (mm)	Stage elastic constant (kg/m)
I	8.00	2.61	9,680
	20.88	3.94	
II	21.29	4.36	10,720
	32.87	5.44	
III	32.15	6.02	12,340
	49.68	7.44	

誌　　謝

本研究計畫經費由農業試驗所提供，並承國立中興大學生物產業機電工程學系彭主任錦樵支援 Instron 4464 型材料試驗機進行青梅壓縮物性測試，謹藉此表示由衷謝忱。

引用文獻

曾得洲。2003。青梅粒徑分級機之改進研究。台東區農業改良場研究彙報 14:109-118。

Doughtie, V. E. and W. H. James. 1960. Elements of mechanism. John wiley & Sons, Inc., New York. 494 pp.

Faires, V. M. 1959. Kinematics. U.S. Naval Postgraduate School, Monterey, California. 468 pp.

Mohsenin, N. N. 1970. Physical properties of plant and animal materials. Gordon and Breach Science Publishers, New York. 891 pp.

A Study on Mume Cracking Machine[1]

Li-Duhng Huarng[2,3], Tyng-Horng Chou[2] and Chih-Kai Yang[2]

Summary

Huarng, L. D., T. H. Chou, and C. K. Yang. 2005. A study on mume cracking machine. J. Taiwan Agric. Res. 54:113-122.

The bottleneck operation in the pickling process of mume fruit is to make a rift on the fruit. The main goal of the study is to develop a machine for mume fruit cracking before pickling with sugar for making crispy mume. The development of the machine will also lower the processing cost hence increasing the revenue of the crispy mume manufacturer as well as the growers. Experimental results showed that the elastic constant of a fruit during compression test could be as high as 12,340 kg/m. The maximum force needed to crack a mume was 50.9 kg and the average force of the 15 mume fruits was 39.6 kg with a standard deviation of 6.2 kg. The machine was designed to crack 5 fruits in a stroke; therefore, the mechanism must be designed to generate the required force. We have developed a prototype machine for mume cracking purpose. The first process in making pickled mume before cracking is to mix the fresh mume with the crude salt in a wood or metal container and then revolve for about 10 minutes. This process will remove the cilia on the skin surface of the mume fruit and also make the mume a little bit softer. The average capacity of the cracking machine in five runs is about 140 kg/hr which is about 10 times larger than that of a manual operation. The cracking quality was determined by the gap between the two parallel plates in which the mume was depressed. To gain better quality in cracking, it is suggested that the mume fruits should be sorted according to their size.

Key words: Mume, Crack, Elastic constant.

---

1. Contribution No.2230 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: September 10, 2005.
2. Respectively, Associate Researcher, Assistant Researcher and Assistant Researcher, Agricultural Engineering Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: jerryh@wufeng.tari.gov.tw；Fax: (04)23325144.

台灣農業研究(J. Taiwan Agric. Res.) 54:123~134 (2005)

水稻之氣象資源利用效率探討-I. 輻射利用效率 [1]

姚銘輝[2,3] 陳守泓[2] 梁連勝[2]

摘　要

姚銘輝、陳守泓、梁連勝。2005。水稻之氣象資源利用效率探討-I.輻射利用效率。台灣農業研究 54:123-134。

輻射利用效率適用於作物生長分析及模式建立之應用。本研究在農委會農業試驗所農場進行，評估水稻之輻射利用效率，以作為描述生長或分化之函數。試驗方法上利用鮑溫比/能量平衡之偵測系統，每二十分鐘量測葉片同化速率一次，以及光度計量測太陽輻射量及光合作用活化輻射量。研究結果顯示，二氧化碳通量和葉片所截取輻射通量具有高相關性，而一期作水稻之輻射利用效率變化由 1.11 至 2.32 $gMJ^{-1}day^{-1}$，二期作則由 0.95 至 1.50 $gMJ^{-1}day^{-1}$。本研究結果與其他文獻相較，輻射利用效率的數值有偏高情形，可能原因應與輻射量中散射光的比值有關，但仍需更進一步的探討。此外，輻射利用效率會隨葉面積指數及生育階段而改變。

關鍵詞：水稻、輻射利用效率、通量。

前　言

農作物每年產量的變異受氣候的影響達 80%以上(Hoogenboom 2000)，在建立作物模式以預測生長特性及產量，或進行氣象災害及氣候變遷衝擊評估方面，對於不同氣象變數在作物生長和發育的潛在影響需有詳盡的瞭解，尤其需以田間實際測值才能建立完整之模式。

早期研究資料即指出，作物所截取光能和其生長有密切線性關係，如 Shibles & Weber(1965)指出大豆在整個生育過程中，乾物重累積和截取輻射量有線性關係。Williams *et al.* (1965)認為玉米截取每百萬焦耳太陽輻射能可產生 1.71g 生質量，至 1977 年 Monteith 建立生質量累積和截取輻射量間之實測及理論基礎，並將兩者的比值稱為輻射利用效率(radiation-use efficiency；RUE)，其結論認為，在良好的生長環境大多數作物可得到 1.4 g MJ^{-1}(即固定值)，同時由葉片最高光合作用速率得出輻射利用效率之理論曲線，而當最高光合作用速率偏低時，RUE 值特別敏感，之後有些研究估算輻射截取量，也同時估算 RUE。例如，Gallapher & Biscoe(1978)比較不同地區穀類作物的生長，在良好生長環境，大麥及小麥之 RUE 基本上是穩定且相近，RUE 值為 3 g MJ^{-1}(PAR)或 1.35 MJ^{-1} SR；在肥料供應不足和乾旱逆境下，RUE 會降低。而比較不同作物別，Gosse *et al.*(1986)指出 C_4 型作物 RUE 值最高，其次是穀類作物，最低為豆科作物。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2231 號。接受日期：94 年 9 月 23 日。
2. 本所農業工程組副研究員、聘用人員與研究員。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：mhyao@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23331673。

輻射利用效率在農作物的研究甚多，如單葉(Salibury ＆ Ross 1992)、小試區(Kiniry 1994)和生長箱控制(Wall ＆ Kanemasu 1990)，這些研究用於比較不同處理結果，但受限於無法以田間為尺度(Rochette *et al.* 1995)。Baldocchi(1994)認為以田間尺度量測更貼近實際狀態，因為如果評估生質量累積用破壞性取樣方式並不可行，這在空間易造成差異，而利用通量(flux)的量測可針對生質量累積和其他控制因素(如輻射量、溫度…等)作動態之即時偵測。Bugbee ＆ Monje(1992)認為生質量累積可經由群落上方二氧化碳通量而作持續性偵測。另外，長期氣象研究發現二氧化碳通量和光合作用及生質量累積具有正相關性(Ham ＆ Knapp 1998)。目前偵測二氧化碳通量以鮑溫比/能量平衡(Bowen ratio／energy balance；BREB)方法最能直接偵測田間實際情形，雖然仍會有些錯誤的產生(Sinclair *et al.* 1975)，然而，許多研究皆可成功的量測 CO_2 通量(Frank 2002；Emmerich 2003)。

雖然研究初期認為 RUE 值為定值，但事實上，該值受品種效應和不同肥料環境影響(Cheng *et al.* 2000)，同時許多試驗在人工控制環境和田間測量結果不同(Albrizio ＆ Steduto 2003)，對於不同生育期的試驗也集中在營養生長期，不包括生殖生長期(Tjoelker *et al.* 1999；Cheng *et al.* 2000)。本研究利用本所農場之水稻試區作整個生育期的量測，在慣行栽培方式下，量測二氧化碳通量及太陽輻射量之日變化，探討氣象資源在農作物生長過程的利用效率，以作為作物模式及能量平衡建立之依據，以期在例行水稻生育調查計畫中，能有更精確測值及新的研究領域。

材料與方法

試驗地點為農委會農業試驗所農場，供試田區為 0.5 公頃，試區周圍皆為水稻田，提供平整及均勻之量測環境，水稻種植品種為台農 67 號，田間栽培管理及施肥依慣行方式進行。

輻射利用效率可由不同量測資料作計算，本研究中以三種方式探討水稻一、二期作之輻射利用效率變化，量測方法及計算公式分別如下述：

1. RUE_{FLUX} **：以通量方式計算輻射利用效率**

CO_2 通量是利用鮑溫比/能量平衡(Bowen ratio／energy balance；BREB)系統(Model 023／CO_2 Bowen ratio system, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA)，在水稻插秧後四周開始測量，每 20 分鐘記錄一筆資料。儀器置放於平整水稻田區之中央位置，在所有方向皆有 100 m 以上之 fetch，通量計算係依據 Dugas *et al.*(1999)所述之方法。鮑溫比是由群落上方 0.5 和 1 m 處，每 2 秒作一次溫度和濕度的梯度差計算；可感熱(sensible heat flux)及潛熱(latent heat)則直接由鮑溫比計算而得；淨輻射量則由淨輻射計(Model Q7.1, REBS, Seattle, WA, USA)量測，另由二塊土壤熱流板(Model HFT, REBS)計算之土壤熱流通量(soil heat flux)；土壤溫度則由熱電偶線置於熱流板上量測。渦流擴散是將熱、水汽和二氧化碳等通量視為相同， CO_2 通量由二種高度之水汽密度差(vapor density differences)作校正(Webb *et al.* 1980)，而不用溫度梯度是因溫度差異在空氣進入紅外線氣體分析儀(infrared gas dnalyzer, IRGA)分析時不顯著(Angell *et al.* 2001)。二氧化碳和水汽濃度是由近紅外光分析儀(Model 6262, Licor, Inc., Lincoln, NE, USA)量測，土壤水分含量是利用 time-domain reflectometry 方法將感測器(Model CS615, Campbell Scientific, Inc.)置於地下 5 cm，風速和風向由二維風速計(Model 03001 R.M. Young Company, MI. USA)，相對濕度和氣溫由溫度及濕度探針(HMP35C, Vaisala Inc., MA,USA)。所有資料儲存於資料收集器(23x data logger, Campbell Scientific Inc.)。

群落上方之 CO_2 通量可由下式作偵測

$$Fc = Kc\frac{\partial C}{\partial Z} = Kc\frac{P\,Mc(C_2 - C_1)}{T\,R(Z_1 - Z_2)}$$

其中，Fc ：CO_2 通量密度； Kc ：CO_2 渦流擴散係數； Z：高度。代入理想氣體定律後，P：大氣壓力； Mc：CO_2 之分子量； T：溫度； R：理想氣體常數，C_2-C_1 及 Z_1-Z_2 分別為不同量測 CO_2 差值及高度。

2. RUE_{CER}**：以二氧化碳交換率計算輻射利用效率**

Bugbee & Monje(1992)認為生質量累積可經由群落上方二氧化碳交換率(Carbon dioxide exchang rate；CER)作持續偵測，同時包括在大面積田間碳素之 source、sink 及 feedback 機制的變化。

$$CER=\beta \sigma_w \rho_a(Cd-Cu) = Pc + R_Ag + Rs$$

其中，Pc 為光合作用速率；R_Ag：地上部呼吸率；Rs：土壤呼吸率。

土壤呼吸率因水稻生育大都處於湛水環境，Miyata *et al.*(2000)認為其 CO_2 通量可忽略，而植體每日累積碳素(C)為 $Pc-R_Ag$，此數值可作為評估水稻輻射利用效率(Radiation use efficiency；RUE)的依據。

$$RUE = \frac{C}{IPAR}$$

IPAR 為水稻植被所截取輻射量，其計算式為

$$IPAR = PAR\,[1-\exp(-K\times LAI)]$$

PAR 為植被上方輻射量；K：crop extinction coefficient，水稻平均值為 0.68(Campbell *et al.* 2001)；LAI：葉面積指數。

3. RUE_{DW} **：以乾物重累積量計算輻射利用效率**

水稻生育期間於分櫱始期、分櫱盛期、最高分櫱、幼穗分化期、孕穗期、抽穗期、乳熟期、糊熟期及黃熟期等生育時期，每週分別自田間採四試驗區 40 叢之稻株，將各器官(葉、桿及穗)分別裝入紙袋，置於 100℃通風乾燥箱 1-2 小時後，再以 80℃處理至完成乾燥，秤量乾物重，並於收穫期測定產量與產量構成要素。

水稻葉面積是利用植冠分析儀(Licor 2000, Licor, Inc., Lincoln, NE, USA)所量測，從水稻移植起，固定每週至田區量測一次。儀器準確性之驗證是利用破壞性葉面積資料作比對，資料來源為農業試驗所之水稻豐歉試驗資料，每週取 20 棵稻株，將綠色葉片摘取下來，以葉面積分析儀(Licor 3000, Licor, Inc., Lincoln, NE, USA)分析每株之葉面積，再依行株距計算出葉面積指數(leaf area index；LAI)。2001 年二期作及 2002 年一期作利用植冠分析儀及葉面積儀所做結果的相關係數為 0.71，而在本研究中葉面積指數是指以植冠分析儀的數據為主。

光度量測部分：包括日射量計(pyranometer)：Eppley PSP (precision spectral pyranometer)，測定範圍 285-2800 nm。光子流計(quantum sensors)：Li-190SA，測定範圍 400-700 nm，每一感測器在使用前以光學輻射校正器(optical radiation calibrator；Licor 1800-02 , Licor, Inc., Lincoln, NE, USA)校正參數。

結　　果

一期作水稻由 2 月 25 日插秧至 6 月 24 日收穫為止共 120 天；二期作由 7 月 29 日插秧至 11 月 16 日收穫為止共 111 天。一期作生育期間氣象條件屬高溫及少雨，累積降雨量為 302 公厘，水田供水以灌溉方式為主；二期作生育期間氣象條件初期遭遇多次豪雨，整個生育期累積降雨量為 671.7 公厘，

較一期作之 302 公厘高出甚多，但在水稻生育中、後期，除 10 月 25 日有 7 公厘降雨外，其餘皆無降雨紀錄。水稻生育受氣象條件的影響，可由圖 1 乾物重累積情形說明，一期作生育較佳，單株乾重可達 76 g，二期作則僅 62 g，而由營養器官乾物重累積可反應到穗重，一、二期作單株穗重差值達 4.5 g，由此推估每公頃產量相差近 1000 kg，差異甚大。水稻葉面積指數對輻射利用效率的評估極為重要，圖 2 為一、二期作每週葉面積指數的變化，由於二期作生育初期因豪雨而生長不佳，葉面積指數最高值僅至 4.0，一期作初期雖遇缺水情形，但因灌溉供水正常，且光照充足及溫度適當，指數可超過 5.0。

由於本研究資料來源為田間實測結果，整個量測環境為開放式，各種氣象因素會影響葉片生理變化，尤其是氣孔導度的開啟程度，包括溫度、溼度、風速及光強，但就葉片固碳過程中，其速率之決定氣象因素仍以光強為主要因子。由圖 3 水稻群落二氧化碳通量與光合成光量子通量(PPFD)的相關性，兩者相關係數達 0.75，光子流量(qudntum flux)越高則光合作用光反應所截取之能量越多，碳素進行卡爾文(Calvin)循環之速率加快，促使葉片內碳水化合物的累積增加。

過去相關研究較少探討日變化，一般以日平均值為單位，但就日間光強呈峰型波動，每一小時所能固定二氧化碳量並不相同。圖 4 是以通量計算輻射利用效率之日變化，以一期作抽穗期，連續七日之資料作整理，這段時間皆為太陽輻射量達 14 MJ 以上晴朗氣象條件。由圖中結果可知，清晨及傍晚(低光)之輻射利用效率最高，極端高值可達 5μg CO_2 μmol^{-1} 以上，低點是在上午 8 點，隨後在正午有一高點。如果以水稻生育期為尺度，探討輻射利用效率，抽穗期是營養生長及生殖生長重要轉換期，抽穗期前所進行光合作用累積之乾物重用於植株本身及儲存養分；抽穗期後葉片所合成碳水化合物則多用於穀粒充實。圖 5 為抽穗期前後一個月期間之輻射利用效率變化情形，高點出現在抽穗期，此時也是葉面積指數最高值出現的時期，而當穀粒形成或充實期，葉片老化或黃化，葉面積逐漸減少，而對光強的反應也減弱，整體輻射利用效率明顯下降。

表 1 為不同葉面積指數等級下，不同計算方式所得到輻射利用效率之比較。RUE_{CER} 值是由每日日間所吸收二氧化碳量除以太陽輻射量累積值，水稻除生育初期及後期外，一期作平均值為 1.93，二期作為 1.73，其中二期作在抽穗期後，因天氣晴朗，太陽輻射高，光合作用旺盛，因此 RUE_{CER} 值下降幅度較少。如果以破壞性取樣方式所得到植株乾物重，其輻射利用效率(RUE_{DW} 值)可達每百萬焦耳產生 2.32 g 的乾物重，二期作則偏低，葉面積高值時之固定量為 1.50 g，生育初期僅為 1.03 g。

討　論

農業上所謂"效率"是指產出和投入的比值(Spedding *et al.* 1981)。農作物產出部分，一般以光合作用速率、乾物重累積量或穀粒產量為衡量基準，但投入部分則較為複雜，除植體本身遺傳特性或生理反應外，促進或減緩作物生長的因子，主要是以氣象環境為主，包括溫度、溼度、風速、光強、降水及二氧化碳濃度等，但其中關鍵氣象變數以降雨、溫度和太陽輻射量三者為主。降雨並非直接影響作物生長過程，但土壤水分卻直接影響產量，不論是因豪雨而造成淹水，或缺水而使作物乾枯；溫度影響作物發育的速率，可由積溫推估作物生育階段；太陽輻射量則直接提供能量供作物行光合作用，影響碳水化合物分配和生質量(biomass)累積。由圖 3 水稻群落之二氧化碳及光強之通量相關性，說明輻射量和光合作用速率間具有線性關係。Cooper(1970)估算入射輻射量中 45%之可見光譜可供光合作用使用，而產生 1 g 乾重約等於固定 4,250 卡化學能。由葉片固碳速率可推估乾物重累積量，甚至於產量，Jong *et al.*(1982)即指出夏威夷玉米穀粒產量可由輻射量變化解釋 78.5%產量的差異，由本研究結果可知一期作乾物重累積大於二期作，單株乾重相差 5 g(圖 1)，但一期作生育期所累積輻射量為 1,409 MJ，二期作為 1,404 MJ，僅相差 5 MJ，同時二期作之生育日數尚少於一期作 10 天，因此，如果僅以

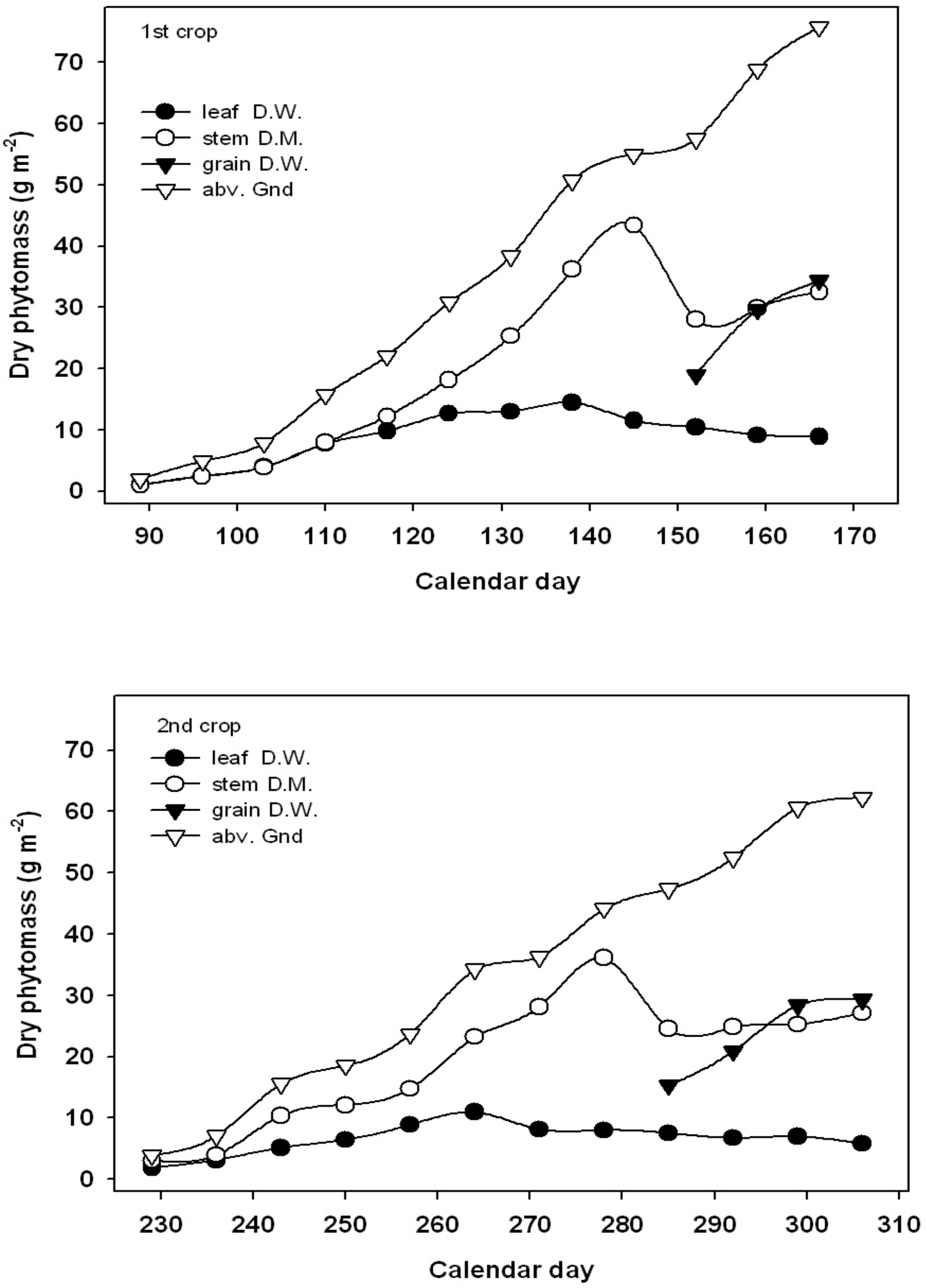

圖 1. 水稻一、二期作各器官乾物重累積值之變化。

Fig. 1. Changes in dry matter accumulation of rice during the 1st and the 2nd cropping seasons in 2004.

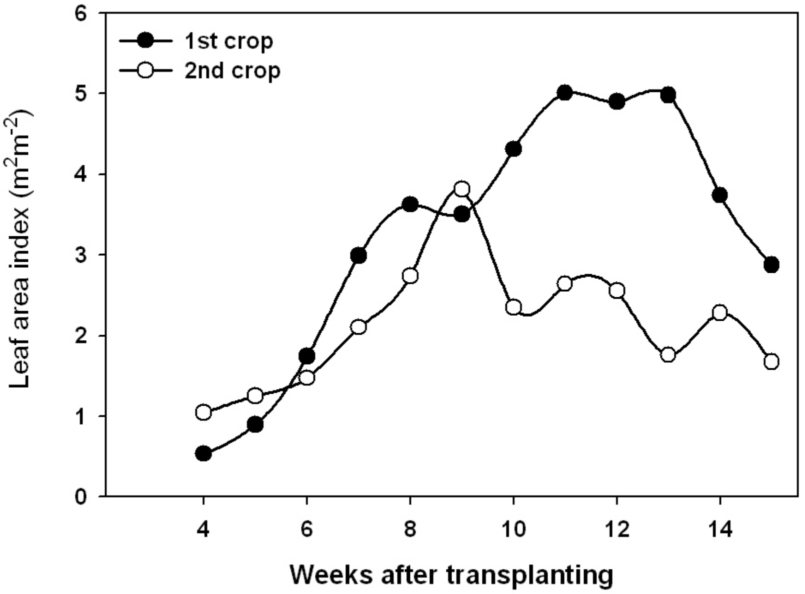

圖 2. 水稻一、二期作葉面積指數之變化。

Fig. 2. Changes of leaf area index of rice during the 1st and the 2nd cropping seasons in 2004.

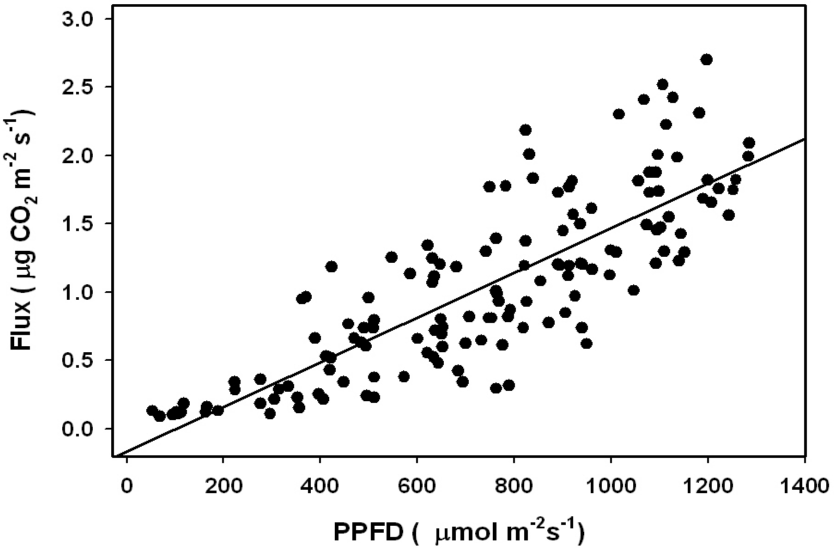

圖 3. 水稻田二氧化碳通量與截取光強之關係。

Fig. 3. Relationship between CO_2 flux and intercepted photosynthetic photon flux density in rice field during calendar days 120-133, 2004.

輻射量差異無法解釋乾物重之累積。事實上，葉片對光能的利用有一定範圍，在探討輻射利用效率之日變化(圖 4)中，說明輻射利用效率在低光環境較高，在正午雖然輻射量高，但輻射利用效率反而較低。當然正午時也受溫度較高影響，Kumar *et al.*(1996)研究發現溫度和 RUE 呈負相關，而由小麥試驗結果也認為溫度影響 RUE(Choudhury 2001)。Sands(1996)指出溫度影響 RUE 乃因溫度影響光合作用所致，高溫作物呼吸作用增加，整個固碳作用循環變慢，高溫也抑制光合活性(包括電子傳遞及酵素活性)，使光合作用速率減緩，和高輻射量的除值，使輻射利用效率下降。

水稻在開花後，整個光合作用產物的傳輸與利用有所改變，此將影響輻射利用效率的表現，尤其是在穀粒充實中、後期之輻射利用效率明顯下降(圖 5)。這在其他文獻也有相同結果，如 Horie & Sakuratani(1985)則認為 RUE 在水稻整個生育期並不一致，水稻開花後 RUE 明顯下降，主要是葉片氮素移至穀粒充實用(Salibury & Ross 1992)，另一解釋認為是開花後行光合作用之有效面積下降所致(Gent & Kiyomoto 1992)。另外，不同物種產量的形成，和收穫產物的組成份有關，例如豆科作物生產高蛋白質和脂質的產物，如果以乾物重為基準所計算之輻射利用效率會較其他作物低。

表 1 為水稻不同生育階段之輻射利用效率變化，由葉面積指數作為生育階段劃分，可看出葉面積指數高之時期，輻射利用效率也較高，雖然，Horie & Sakuratani (1985)認為水稻 RUE 對葉面積指數改變僅小幅反應。Sinclair & Horie(1989)也認為 RUE 在葉面積改變時呈穩定，除了葉面積指數小於 1.0 外，也就是說，RUE 對 LAI 變化缺乏敏感性。但由本試驗結果說明，RUE 仍明顯受葉面積指數變動的影響。

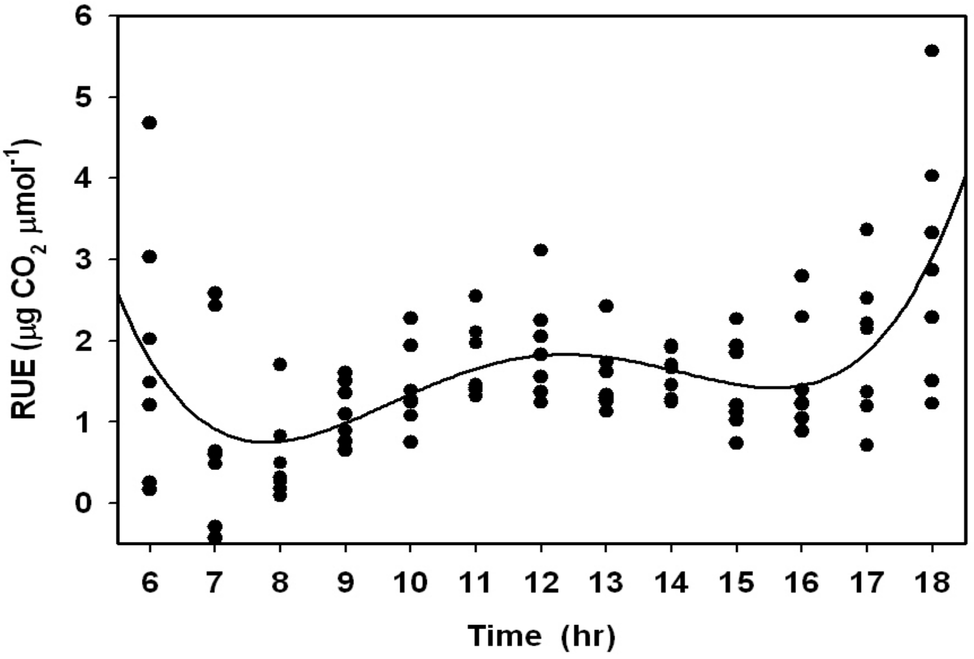

圖 4. 水稻孕穗期之輻射利用效率之日變化。

Fig. 4. Diural change of the radiation use efficiency during the heading stage of the 1st crop.

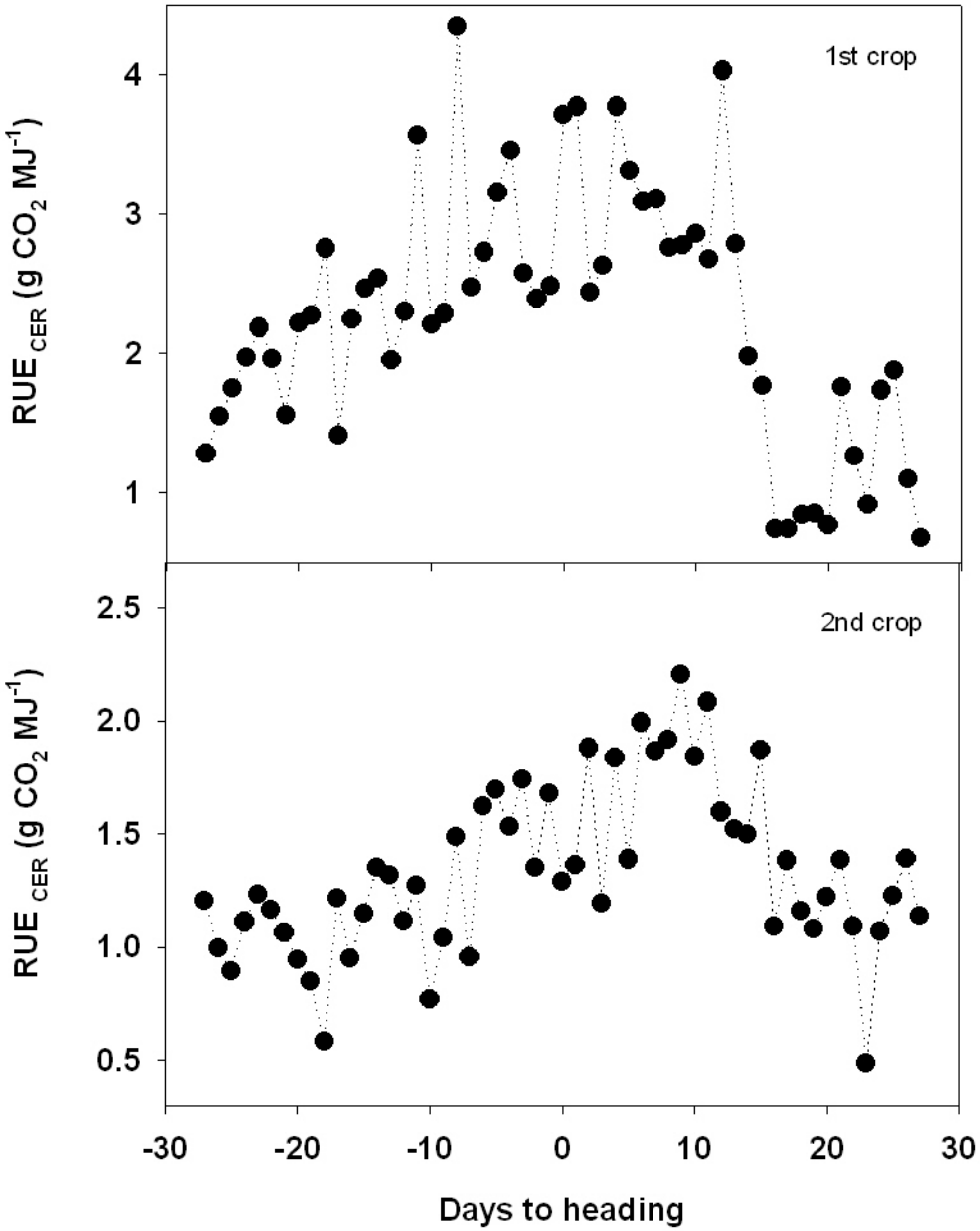

圖 5. 水稻抽穗期前後一個月之輻射利用效率之變化。

Fig. 5. Daily change of the radiation use efficiency during the one month periods before and after heading stage of rice in both the first and the second crops.

表 1. 比較不同輻射利用效率計算之差異，資料由田間破壞性乾物種取樣及 BREB 系統之二氧化碳交換速率計算而來
Table 1. Comparisons of different radiation use efficiencies calculated by using field dry matter or CO_2 exchange rate obtained from field destructive sampling and BREB system.

Season	LAI [z]	RUE_{CER} [y]	RUE_{DW}
1st crop	LAI<1	0.96±0.09	1.75±0.16
	LAI 1-3	1.87±0.07	2.24±0.11
	LAI 3-5	1.96±0.07	2.32±0.16
	LAI*<5	1.53±0.11	1.11±0.19
2nd crop	LAI<1	0.63±0.12	1.03±0.18
	LAI 1-3	1.76±0.11	1.10±0.10
	LAI 3-5	1.70±0.09	1.50±0.13
	LAI* <5	1.79±0.14	1.41±0.15

[z] LAI=Leaf area index; * post-heading.
[y] RUE=Radiation use efficiency.

Sinclair ＆ Muchow(1999)所作分析整理的文章中，水稻輻射利用效率最高值為 1.39 g MJ^{-1}，平均值為 1.1 g MJ^{-1}，但由本研究中表 1 結果皆偏高，最高值可達 2.32 g MJ^{-1}。作物輻射利用效率是由田間試驗結果所計算而得，田間影響作物生長的因子，尤其是有關光合作用速率更會直接影響，影響因素可概分為生物及非生物因素。生物因素指作物遺傳特性，尤其是光合作用速率的差異，但由和其他水稻栽培地區的比較，我國水稻產量並非屬於高產，品種選拔也非針對光合作用速率。至於非生物因素中，Luo *et al.*(1996)探討二氧化碳濃度對光合作用速率之敏感度分析，得到輻射和碳素利用效率非常緊密的結果。葉片光合作用速率對葉片氮素含量敏感，這是輻射利用效率變異很大的原因(Sinclair ＆ Horie 1989)，當高葉片含氮量時，RUE 反應曲線呈飽和，其增加僅使 RUE 略增，在飽和值時，玉米約 1.8 g MJ^{-1}，稻米 1.5 g MJ^{-1}，大豆 1.3 g MJ^{-1}，而當葉片含氮量偏低時，RUE 則對氮肥反應非常敏感。

Hammer ＆ Wright(1994)認為影響 RUE 非生物因素中，以大氣穿透率影響最大，當由晴天轉為陰天時，RUE 以 0.4 g MJ^{-1} 增加，而陰天增加散射組成比例，可使 RUE 增加 0.15 g MJ^{-1}。事實上，Norman ＆ Arkebauer(1991)認為太陽輻射中之散射及直射比值增加和 RUE 增加呈線性關係。Horie ＆ Sakuratani(1985)水稻遮陰處理之 RUE，遮陰 46％之 RUE 為 1.66 g MJ^{-1}，遮陰 72％之 RUE 為 1.98 g MJ^{-1}，但未遮陰之 RUE 為 1.26 g MJ^{-1}。在開頂溫室所得到 RUE 值較田間高 32％(Manderscheid *et al.* 2003)，除溫室內二氧化碳濃度較高外，溫室增加散射光之比值也是 RUE 增加的原因。在水稻栽培區中，我國地理位置雖亞熱帶，但因降雨日數或空氣污染因素造成太陽輻射偏低，同時雲量也有不同改變(姚等 1999)，加上對於直射及散射光比例在作物方面的探討甚少，或許因散射光比值偏高造成輻射利用效率較高，這部分仍有待更進一步的探討。

引用文獻

姚銘輝、盧虎生、朱鈞。1999。台灣地區日溫差之分析。中華農學會報 188：32-46。

Albrizio, R. and P. Steduto. 2003. Photosynthesis, respiration and conservative carbon use efficiency of four field grown crops. Agric. For. Meteorol. 116:19-36.

Angell, R., T. Svejcar, J. Bates, N. Z. Saliendra, and D. A. Johnson. 2001. Bowen ratio and closed chamber carbon dioxide flux measurement over sagebrush steppe vegetation. Agric. For. Meteorol. 108:153-161.

Baldocchi, D. 1994. A comparative-study of mass and energy-exchange rates over a closed C_3 (wheat) and an open C_4 (corn) crop. II. CO_2 exchange and water-use efficiency. Agric. For. Meteorol. 67:291-321.

Bugbee, B. and O. Monje. 1992. The limits of crop productivity. Bioscience 42:494-502.

Campbell, C. S., J. Heilman, L. McInnes, K. J. Wilson, L. T. Medley, J. C. Wu, and D. R. Cobos. 2001. Seasonal variation in radiation use efficiency of irrigated rice. Agric. For. Meteorol. 110:45-54.

Cheng, W., D. A. Sims, Y. Luo, J. S. Coleman, and D.W. Johnson. 2000. Photosynthesis, respiration and net primary production of sunflower stands in ambient and elevated atmospheric CO_2 concentrations：an invariant NPP：GPP ratio？Global Change Biol. 6:931-941.

Choudhury, B. J. 2001. Modelling radiation- and carbon-use efficiencies of maize, sorghum, and rice. Agric. For. Meteorol. 106:317-330.

Cooper, J. P. 1970. Potential production and energy conversion in temperate and tropical grasses. Herbage Abstr. 40:1-13.

Dugas, W. A., M. L. Heuer, and H. S. Mayeux. 1999. Carbon dioxide fluxes over bermuda grass, native prairie, and sorghum. Agric. For. Meteorol. 93:121-139.

Emmerich, W. E. 2003. Carbon dioxide fluxes in a semiarid environment with high carbonate soils. Agric. For. Meteorol. 116:91-102.

Frank, A. B. 2002. Carbon dioxide fluxes over a grazed prairie and seeded pasture in the Northern Great Plains. Environ. Pollu. 116:397-403.

Gallagher, J. N. and P. V. Biscoe. 1978. Radiation absorption, growth and yield of cereals. J. Agric. Sci. 91:47-60.

Gent, M. P. N. and R. K. Kiyomoto. 1992. Canopy photosynthesis and respiration in winter-wheat adapted and unadapted to Connecticut. Crop Sci. 32:425-431.

Gosse, G., C. Varlet-Grancher, R. Bonhomme, M. Chartier, J. M. Allirand, and G. Lemaire. 1986. Maximum dry matter production and solar radiation intercepted by a canopy. Agronomie 6:47-56.

Ham, J. M. and A. K. Knapp. 1998. Fluxes of CO_2, water vapor, and energy from a prairie ecosystem during the seasonal transition from carbon sink to carbon source. Agric. For. Meteorol. 89:1-14.

Hammer, G. L. and G. C. Wright. 1994. A theoretical analysis of nitrogen and radiation effects on radiation use efficiency in peanut. Aust. J. Agric. Res. 45:575-589.

Hoogenboom, G. 2000. Contribution of agrometeorology to the simulation of crop production and its applications. Agric. For. Meteorol. 103:137-157.

Horie, T. and T. Sakuratani. 1985. Studies on crop-weather relationship model in rice. I. Relation between absorbed solar radiation by the crop and the dry matter production. J. Agric. Meteorol.(Japan)40:331-342.

Jong, S. K., J. L. Brewbaker, and C. H. Lee. 1982. Effects of solar radiation on the performance of maize in 41 successive monthly plantings in Hawaii. Crop Sci. 22:13-18.

Kiniry, J. R. 1994. Radiation-use efficiency and grain yield of maize competing with johnsongrass. Agron. J. 86:554-557.

Kumar, P. V., N. N. Srivastava, U. S. Victor, D. G. Rao, D. G., A. V. M. S. Rao, Y. S. Luo, Y., D. A. Sims, R. B. Thomas, D. T. Tissue, and J. T. Ball. 1996. Sensitivity of leaf photosynthesis to CO_2

concentration is an invariant function for C_3 plant：a test with experimental data and global application. Global Biogeochem. Cy. 10:209-222.

Manderscheid, R., S. Burkart, B. Bramm, W. Hans-Joachim. 2003. Effect of CO_2 enrichment on growth and daily radiation use efficiency of wheat in relation to temperature and growth stage. Europ. J. Agron. 19:411-425.

Miyata, A., R. Leuning, O. T. Denmead, J. Kim, and Y. Harazono. 2000. Carbon dioxide and methane fluxes from an intermittently flooded paddy field. Agric. For. Meteorol. 102:287-303.

Monteith, J. L. 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci. 281:277-294.

Norman, J. M. and T. J. Arkebauer. 1991. Predicting canopy photosynthesis and light-use efficiency from leaf characteristics. p.75-94. *in*: Modeling Crop Photosynthesis -From Biochemistry to Canopy. CSSA Special Publ. No.19. Am. Soc. Agron. Crop Sci. Soc. Am., Madison, WI.

Rochette, P., R. L. Desjardins, E. Pattey, and R. Lessard. 1995. Crop net carbon dioxide exchange rate and radiation use efficiency in soybean. Agron. J. 87:22-28.

Salibury, F. B. and C. W. Ross. 1992. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California. 682 pp.

Sands, P. J. 1996. Modeling canopy production. III. Canopy light-utilization efficiency and its sensitivity to physiological and environmental variables. Aust. J. Plant Physiol. 23:103-114.

Shibles, R. M. and C.R. Weber. 1965. Leaf area, solar radiation interception and dry matter production by soybeans. Crop Sci. 5:575-577.

Sinclair, T. R., Jr. L. H. Allen, and E. R. Lemon. 1975. An analysis of errors in the calculation of energy flux densities above vegetation by a Bowen ratio profile method. Boundary-Layer Meteorol. 8:129-139.

Sinclair, T. R. and R. C. Muchow. 1999. Radiation use efficiency. Adv. Agron. 65:215-265.

Sinclair, T. R. and T. Horie. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency：A review. Crop Sci. 29:90-98.

Spedding, C. R. W., J. M. Walshingham, and A. M. Hoxey. 1981. Biological efficiency in Agriculture. Academic Press, London. 300 pp.

Tanaka, A. and J. Yamaguchi. 1968. The growth efficiency in relation to the growth of the rice plant. Soil Sci. Plant Nutr. 14:110-116.

Tjoelker, M. G., J. Oleksyn, and P. B. Reich. 1999. Acclimation on respiration to temperature and CO_2 in seedlings of borea tree species in relation to plant size and relative growth rate. Global Change Biol. 49:679-691.

Wall. G. W. and E. T. Kanemasu. 1990. Carbon dioxide exchange rates in wheat canopies. Part I. Influence of canopy geometry on trends in leaf-area index, light interception and instantaneous exchange rate. Agric. For. Meteorol. 49:81-102.

Webb, E. K., G. I. Pearman, and R. Leuning. 1980. Correction of flux measurements for density effects due to heat and water vapor transfer. Q. J. R. Meteorol. Soc. 106:85-100.

Williams, W. A., R. S. Loomis, and C. R. Lepley. 1965. Vegetative growth of corn as affected by population density. I. Productivity interrelation to interception of solar radiation. Crop Sci. 5:211-219.

Studies on Meteorological Resources Use Efficiency in Rice. I. Radiation Use Efficiency [1]

Ming-Hwi Yao[2,3], Shou-Hung Chen[2] and Liang-Sheng Lien[2]

Summary

Yao, M. H., S. H. Chen, and L. S. Lien. 2005. Studies on meteorological resources use efficiency in rice. I. Radiation use efficiency. J. Taiwan Agric. Res. 54:123-134.

The concept of radiation-use efficiency (RUE=carbon assimilated per unit intercepted photosynthetic photon flux density) is commonly used for analysis and modeling of crop growth. Field experiment was conducted in 2004 to evaluate RUE as a function of growth and development in paddy field of Agricultural Research Institute. Twenty-minute average of carbon assimilation rate was obtained from Bowen ration / energy balance (BREB) system, and light was measured with quantum sensors or pyranometers. Results indicated a high correlation between CO_2 flux and intercepted light flux during heading stage of rice, and the RUE values of rice ranged from 1.11 to 2.32 g MJ^{-1} day^{-1} in first crop , and 0.95 to 1.5 g MJ^{-1} day^{-1} in second crop. The mechanism underlying the higher values of RUE measured in this experiment, relative to those of other studies is not clear. However, the changes in diffuse radiation proportionality may insert a potential influence. Despite of this, we concluded that when RUE is a rice growth model parameter, it may be changed by varied LAI in different growth stages.

Key words: Rice, Radiation use efficiency, Flux.

---

1. Contribution No.2231 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: September 23, 2005.
2. Respectively, Associate Researcher, Assistance and Researcher, Agricultural Engineering Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: mhyao@wufeng.tari.gov.tw；Fax: (04)23331673.

台 灣 農 業 研 究 稿 約

一、本刊為行政院農業委員會農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究稿件：

論　　說：由本所邀請專家撰寫。

研究報告：關於農業科學未曾發表之研究報告，按題目、作者、摘要、前言、材料與方法、結果、討論、結論(可略去)、誌謝(可略去)、引用文獻等依序撰寫，圖與表附於其後，全文以不超過十印刷頁為原則。

研究簡報：關於農業科學未曾發表之簡短原始研究報告，不需分章節撰寫，但需附中英文摘要，全文以不超過四印刷頁為原則。

二、稿件應以中文或英文撰寫。來稿請送原稿一份及影印稿二份(內各附照片原圖，繪製圖版可附原圖與影印圖片二份)。文稿以 A4 大小之白色紙張(長 29.6 公分，寬 21 公分)，空一行(double space)打字，12 號字，左邊對齊，上下應預留 3 公分，左右 2 公分空間，並自第二頁起在右下角以阿拉伯數字註明頁數。英文撰寫時，左邊對齊、字距一格，句距二格，以 Times New Roman 字體打字，以便審查。審查接受之稿件，隨文請附文稿內容磁片或電子檔案，以利電腦排版等作業。

三、稿件格式：

題　　目：宜簡短，能充分反應文旨，並附簡題(Running title)。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫。題目附小註，說明研究報告編號。

作　　者：作者姓名置中，中文名字間空一格；英文姓名則名在前姓氏在後，作者二人或二人以上時，以“，”相隔，最後一人前加“and”字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen and Chyr-Guan Chen。每一作者需附小註，以說明所屬機關單位，通訊作者須附電子郵件信箱與傳真機號碼。題目與作者同置第一頁。

摘　　要：不分段落、宜簡潔明確。摘要之前應加作者、年代、題目、期刊、卷期及頁數，摘要之後應附關鍵詞 (Key words)，關鍵詞不超過五個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫。摘要以不超過五百字為原則。以中(英)文發表者須附英(中)文摘要，置於本文之後，且內容須與中(英)文摘要相符，並附稿件編號、作者、通訊作者之小註。

本　　文：依序為前言(INTRODUCTION)、材料與方法(MATERIALS AND METHODS)、結果(RESULTS)、討論(DISCUSSION)、結論(CONCLUSION)、誌謝(ACKNOWLEDGEMENTS)、引用文獻(LITERATURE CITED)。除學名、專有名詞、化學式、數學公式、數字、度量衡單位及縮寫外，文句中不得中外文並用，須使用英 (外) 文以助明瞭時，須將英 (外) 文括號置於中文之後。材料與方法、結果兩部份如有必要須分章節，每一章節內並可再分小章節，以助明瞭文稿內容。章節題目(heading)單行置於該章節之前，小章節題目(sub heading)直接置於小章節之首。

表　　格：

1、每一表格應分別繕製，上方須有標題，並按文中出現順序加上表 1 (Table 1.)，表 2 (Table 2.) 等冠號。

2、中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。

3、表格應加分析、簡化與歸納後始可列表。每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

4、表中內容如需說明，均須附加小註，以 z, y, x,…等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依次敘述。

5、表格僅列橫線。

6、性質類同之圖與表務請精簡與合併。

圖　片：

1、圖版以黑色墨水分別繪圖紙或描繪紙(白色透明紙)上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。

2、圖中加註者，應於圖中說明，或以括號註明於標題之後。

3、照片以光面紙為原則，清晰度以縮小 50%可判讀為宜。多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明。顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面(25cm X 18cm)為宜。

4、圖版及照片下方應有標題 (或另頁繕寫)，並按文中出現的順序加上圖 1(Fig.1)、圖 2(Fig.2)等冠號，在文中須標示清楚，以便對照。中文稿應中英文併寫，力求明確。

5、除併圖外，每一圖片應單頁製作。

6、照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。

誌　謝：不分段落，包括人物、經費來源等。誌謝可略去。

引用文獻：

1、引用文獻(LITERATURE CITED)－列舉確實曾引用之文獻。文獻以登載於學術性期刊、書籍、研討會之文章及學位論文為限。文中涉及引用文獻時，根據該文獻的作者與年代加以括號：如 (Sung 1991) (Lo 1991，1992) (陳 & 胡 1983) (Sung 1991；Hsu *et al.* 1992)，置於引用文處。

2、中文稿可列中、英文文獻，文獻原文為中(英)文者，須以中(英)文列文獻。英文稿之引用文獻須全採用英文。

3、中文文獻以作者姓氏筆劃為序，英文文獻以姓名字母為序。中英文併陳時，中文在前，英文銜接其後。作者相同時以年代先後為序。

4、文獻之書寫方法以期刊為例，依序為作者、年代、題目、期刊、卷期、頁數。

5、西文期刊名須用縮寫，其縮寫方式參照美國出版之〝Biosciences Information Service of Biological Abstracts〞規定，中文期刊用全名。

6、文獻的書寫範例如下：

(1)文獻出自學術性期刊

陳隆澤、胡念才。1983。水稻品種(系)對稻熱病抵抗性反應之研究。中華農業研究 32:1-13。

Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo, and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse. J. Agric. China 157:34-43. (in Chinese with English Abstract).

Weng, J. H. 1992. CO_2 exchange characteristics of C_3 and C_4 vegetable crops in response to light and nitrogen (in Chinese). J. Agric. Assoc. China 157:21-33.

(2)文獻出自著作性書籍

楊清白。1980。家畜飼料學。藝軒。台北。180 pp.

Sung, J. M. 1991. Nitrogen Metabolism of Rice. Chinese Agronomy Press, Taipei. 100 pp.

(3)文獻出自編輯性書籍

Lo, W. S. 1991. The effect of calcium on nitrogen metabolism. p.100-110. *in* : Biology of Rice. (Sung, J. M. and D. J. Liu, eds.) Chinese Agronomy Press, Taipei.

四、單位、縮寫格式及統計分析

1、所有度量衡均採公制，數量如用中(英)文數字，單位以中(英)文全名表示；數量如用阿拉伯數字，單位以 SI units 為準，如一公尺(one meter, 1 m)、二公克(two grams, 2 g)、三公升(three liters, 3 L)、四毫升(four milliliters, 4 ml)。各常用之縮寫單位參照說明如下：

(1)長度：公里(km)、公尺(m)、公分(=厘米)(cm)、公釐(=毫米)(mm)、微米(μm)。

(2)重量(W)：公斤(kg)、公克(g)、μg。

(3)容積(V)：公升(L)、公撮(=毫升)(ml)、μl。

2、溫度：攝氏(°C)、絕對溫度(°K，但須加以說明)。

3、時間：年(yr)、月(mo)、週(wk)、日(天)(day,days)、時(hr)、分(min)、秒(sec)。

4、濃度：莫耳(M)、千分之一莫耳(mM)、當量(N)、千分之一當量(mN)。

5、重力加速度：*g*。

6、其他之縮寫：平均(*av*)、大約(*ca*)、直徑(diam.)。

7、統計分析：達顯著性水準以*、**或處理間顯著差異區分，以 a、b、c、…表示者均應加註顯著機率值 *P*(例如 *P*<0.01)；各統計量請採慣用符號，例如相關係數(*r*)、決定係數(R)、變異係數(cv)、標準機差(se)等。

五、生物學名以斜體字表示，屬名第一字母大寫。學名於摘要、本文、每一圖表中第一次出現時，須寫全名，如 *Citrus sinensis*；第二次出現時，屬名保留第一字母後加句點“.”，種名全寫，如 *C. sinensis*。生物學名於本文中首次出現時應加註命名者。

六、稿件內容務須依照上列規定格式書寫，本期刊編輯委員保有修改與退稿之權利。文稿經本期刊接受後，作者得送含文稿內容之磁片或電子檔案(IBM 相容電腦之文書管理檔，如 Word 檔或其他)，並由作者負責前二校。除筆誤與格式外，作者在校稿時，不得擅自更改內容與數據。

七、投稿本期刊之稿件，不得投稿其他刊物。稿件經本期刊接受後，刊登權屬農試所所有，非經本所書面同意，不得轉載或移轉他處發表。

八、來稿經編審委員會審查合格後刊登，由本刊印贈抽印本 50 本；彩色頁印刷及抽印本加印費用由投稿人自行負擔。

九、其他未盡事宜本期刊得隨時修正或補充。

台 灣 農 業 研 究

(原中華農業研究)

第五十四卷　第二期

中華民國九十四年六月出版

發 行 人：林俊義

總 編 輯：安寶貞

主　　編：蕭淑芬　黃淑華　楊舜臣

編審委員：

農藝組：王強生（主審）

呂秀英　陳一心　楊純明　劉新裕

園藝組：歐錫坤（主審）

王德男　施昭彰　徐信次　劉政道

劉邦基　黃肇家

農化組：廖慶樑（主審）

郭鴻裕　劉慧瑛　簡宣裕

植病組：張清安（主審）

安寶貞　程永雄　蔡武雄　鄧汀欽

應動組：王清玲（主審）

何琦琛　陳炳輝　陳健忠　鄭　允

農機組：蔡致榮(主審)

黃禮棟　梁連勝

種原組：范明仁（主審）

農經組：潘德芳（主審）

另聘請各大學院校及研究機關相關學者專家擔任審查委員

Vol. 54., No.2 June. 2005

JOURNAL
OF
TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH
(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

PUBLISHER: Lin, Chien-Yih

EDITORS IN CHIEF: Ann, Pao-Jen

EDITORS:

Shiau, Shu-Fen   Huang, Shu-Hua   Yang, Shen-Chen

EDITORIAL BOARD:

Chang, Chin-An (Plant Pathology)
Ou, Shyi-Kuan (Horticulture)
Tsay, Jyh-Rong (Agriculture Engineering)
Liaw, Ching-Liang (Agriculture Chemistry)
Wang, Chin-Ling (Applied Zoology)
Wang, Chang-Sheng (Agronomy)
Fan, Ming-Jen (Crop Genetic Resources)
Pan, Te-Fang (Agriculture Economics)

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

Chen, Bing-Huei   Chen, Chien-Chung   Chen, Yi-Shin
Cheng, Edward Yun   Cheng, Yung-Hsiung   Chien, Shiuah-Yuh
Deng, Ting-Chin   Guo, Horng-Yuh   Ho, Chyi-Chen
Hsu, Hsin-Tszu   Huang, Chao-Chia   Huarng, Li-Duhng
Liang, Lien-Sheng   Liou, Pan-Chi   Liou, Tsung-Dao
Liu, Huey-Ing   Liu, Sin-Yie   Lu, Hsiu-Ying
Shih, Jau-Chang   Tsai, Wu-Hsiung   Wang, Der-Nan
Yang, Chwen-Ming

Reviewers of the related fields are also invited from universities and other research organizations

台灣農業研究第五十四卷第二期

編　　者：行政院農業委員會農業試驗所

發 行 人：林俊義

發 行 所：行政院農業委員會農業試驗所

地　　址：台中縣霧峰鄉 413 萬豐村中正路一八九號

網　　址：http://www.tari.gov.tw

電　　話：(04)2330-2301～5

編　　輯
印 製 者：學安文化事業有限公司

地　　址：台中市南區仁和二街七十八號

電　　話：(04)2286-1600

中華民國 94 年 6 月出版

Vol. 54, No.2 Jun. 2005

JOURNAL OF TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

CONTENTS

Review Article

Progress and Application of DNA Methylation Detection
......................................Yu-Chia Hsu , Hsin-Mei Ku and Chang-Sheng Wang ··· 71

Research Reports

Study on the Taste Quality of Baked Sweet Potato Variety Tainung No. 72
....Hsin-Chen Lee and Yi-Shin Chen ··· 83

Influence of Cytokinin and Ventilating Container Closure on Shoot Proliferation and Hyperhydricity of *In Vitro Salvia miltiorriza* Culture
.............Uei-Chern Chen, Yih-Juh Shiau, Hsin-Sheng Tsay and Chi-Ni Hsia ··· 93

A Fast Method for Screening Amylose Mutant Rice
......Toong-Long Jeng, Su-Yue Lin, Tong-Hai Tseng and Chang-Sheng Wang ··· 103

A Study on Mume Cracking Machine
..............................Li-Duhng Huarng, Tyng-Horng Chou and Chih-Kai Yang ··· 113

Studies on Meteorological Resources Use Efficiency in Rice. I. Radiation Use Efficiency
...............................Ming-Hwi Yao, Shou-Hung Chen and Liang-Sheng Lien ··· 123

Published by

THE TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE,
COUNCIL OF AGRICULTURE

Taichung, Taiwan, Republic of China

中華郵政中臺字第〇三〇九登記為雜誌交寄

ISSN 0376-477

GPN02526389007

定價：新臺幣一七五